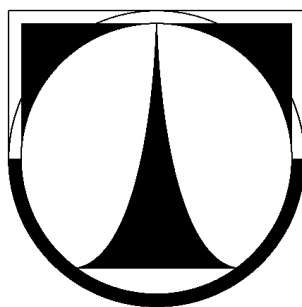


**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI**

**FAKULTA TEXTILNÍ**



**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**LIBEREC 2010**

**MARCELA ANDERLOVÁ**

# TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI

## FAKULTA TEXTILNÍ

Studijní program: M3106 Textilní inženýrství

Studijní obor: Netkané textilie

### **PŘÍPRAVA PORÉZNÍCH NANOVLÁKENNÝCH VRSTEV Z BIOLOGICKY AKCEPTOVATELNÉHO POLYMERU**

### **PREPARATION OF POROUS NANOFIBER SHEETS FROM BIOLOGICALLY ACCEPTABLE POLYMER**

Autorka:	<b>Marcela Anderlová</b>
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Daniela Lubasová
Konzultant diplomové práce:	doc. Ing. Lenka Martinová, CSc.

Počet stran: .....	82
Počet obrázků: .....	30
Počet tabulek: .....	12
Počet grafů: .....	8
Počet příloh: .....	4

V Liberci 3.5.2010

## Prohlášení

Prohlašuji, že předložená diplomová práce je původní a zpracovala jsem ji samostatně. Prohlašuji, že citace použitých pramenů je úplná, že jsem v práci neporušil/a autorská práva (ve smyslu zákona č. 121/2000 Sb. O právu autorském a o právech souvisejících s právem autorským).

Souhlasím s umístěním diplomové práce v Univerzitní knihovně TUL.

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č.121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 (školní dílo).

Beru na vědomí, že TUL má právo na uzavření licenční smlouvy o užití mé diplomové práce a prohlašuji, že **s o u h l a s í m** s případným užitím mé diplomové práce (prodej, zapůjčení apod.).

Jsem si vědom toho, že užít své diplomové práce či poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem TUL, která má právo ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, vynaložených univerzitou na vytvoření díla (až do jejich skutečné výše).

V Liberci, dne 3.5.2010

.....

Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala paní Ing. Daniele Lubasové za ochotu a odbornou pomoc při zpracování diplomové práce. Poděkování dále patří paní doc. Ing. Lence Martinové, CSc. za věcné připomínky, paní Mgr. Daně Marekové a panu Ing. Miloslavu Lhotkovi, Ph.D. za provedená měření, jejichž výsledky jsou součástí diplomové práce.

V neposlední řadě můj dík patří mamince Marcele Anderlové za podporu v celém průběhu studia a také Jiřímu Leskovi za pomoc při tvorbě obrázků, které jsou publikovány v této diplomové práci.



## Anotace

Diplomová práce se zabývá přípravou porézních nanovláknenných vrstev z PCL. Důležitou část této práce tvoří řešerše týkající se rozdílných způsobů přípravy porézních nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování. V řešeršní části jsou dále popisovány jednotlivé způsoby charakterizace porézních materiálů.

Snahou experimentální části bylo připravit z PCL roztoky ve vhodných rozpouštědlech. Posléze z těchto roztoků prostřednictvím elektrostatického zvlákňování vyrobit vrstvy obsahující porézní a také neporézní vlákna. Dále byla věnována pozornost modifikaci podmínek elektrostatického zvlákňování a to zejména vlivu teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování. V neposlední řadě byl zjišťován rozdíl mezi měrnými povrchy připravených nanovláknenných vrstev.

**Klíčová slova:** PCL, elektrostatické zvlákňování, porézní nanovláknna, měrný povrch, BET isoterma,

## Annotation

The thesis deals with preparation of porous nanofibrous sheets from PCL. An important part of this thesis is a search on different ways of preparation of porous nanofibers via electrospinning. Particular ways of characterization of porous materials are described in the search too.

The effort of the experimental part was preparing of PCL solutions in suitable solvents. These solutions were then used to produce electrospun sheets containing porous and nonporous fibers. Further attention was devoted to modification of conditions of electrospinning, especially to the effect of the collector temperature on electrospinning. Last but not least the difference between specific surfaces of prepared nanofibrous sheets was investigated.

**Key words:** PCL, electrospinning, porous nanofibers, specific surface, BET isotherm

**Obsah:**

<b>Seznam obrázků.....</b>	<b>- 9 -</b>
<b>Seznam symbolů a zkratk.....</b>	<b>- 11 -</b>
<b>Úvod .....</b>	<b>- 13 -</b>
<b>1. Teoretická část .....</b>	<b>- 15 -</b>
<b>1.1. Vysvětlení základních pojmů.....</b>	<b>- 15 -</b>
1.1.1. Tkáňové inženýrství.....	- 15 -
1.1.2. Scaffold.....	- 15 -
1.1.3. Biokompatibilita a Biodegradabilita.....	- 16 -
<b>1.2. PCL .....</b>	<b>- 16 -</b>
1.2.1. Vlastnosti PCL.....	- 17 -
1.2.2. Příprava PCL.....	- 17 -
1.2.3. Zpracování a použití PCL.....	- 18 -
1.2.4. Biodegradace PCL.....	- 18 -
<b>1.3. Elektrostatické zvlákňování.....</b>	<b>- 18 -</b>
1.3.1. Princip elektrostatického zvlákňování.....	- 19 -
1.3.2. Parametry elektrostatického zvlákňování .....	- 21 -
1.3.3. Biomedicínské aplikace nanovláken .....	- 22 -
<b>1.4. Porézní materiály.....</b>	<b>- 24 -</b>
1.4.1. Porézní nanovláken a jejich výroba.....	- 24 -
1.4.1.1. Příprava porézních vláken prostřednictvím tepelné degradace jedné ze složek elektrostaticky zvlákněných polyeterimid (PEI)/poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerat) (PHBV) vláken.....	- 25 -
1.4.1.2. Příprava porézních, extrémně jemných polyglykolových (PGA) vláken prostřednictvím rozpouštění jedné ze složek elektrostaticky zvlákněných PGA/PLA vláken.....	- 26 -
1.4.1.3. Vliv teploty kolektoru na porézní strukturu vláken vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování.....	- 27 -
1.4.1.4. Vysoce porézní vláken připravená elektrostatickým zvlákňováním trojsložkové soustavy srážedlo/rozpuštědlo/polymer.....	- 30 -
1.4.2. Využití porézních nanovláken .....	- 31 -
<b>1.5. Charakterizace porézních povrchů.....</b>	<b>- 32 -</b>

1.5.1.	Adsorpční metody .....	- 32 -
1.5.2.	Rtuťová porozimetrie .....	- 36 -
<b>2.</b>	<b>Experimentální část .....</b>	<b>- 38 -</b>
<b>2.1.</b>	<b>Použité chemikálie .....</b>	<b>- 38 -</b>
2.1.1.	PCL .....	- 38 -
2.1.2.	Rozpouštědla .....	- 39 -
<b>2.2.</b>	<b>Použité zařízení .....</b>	<b>- 42 -</b>
2.2.1.	Zařízení pro elektrostatické zvlákňování .....	- 42 -
2.2.2.	Rastrovací elektronový mikroskop (SEM) .....	- 43 -
2.2.3.	Zařízení pro měření textury sorpční technikou .....	- 44 -
<b>2.3.</b>	<b>Příprava roztoků PCL pro zvlákňování .....</b>	<b>- 45 -</b>
<b>2.4.</b>	<b>Výroba porézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování.....</b>	<b>- 46 -</b>
2.4.1.	Volba rozpouštědel pro přípravu porézních PCL nanovláken .....	- 46 -
2.4.2.	Elektrostatické zvlákňování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL .....	- 47 -
2.4.3.	Výsledky elektrostatického zvlákňování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL .....	- 48 -
2.4.4.	Závěr k elektrostatickému zvlákňování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL .....	- 49 -
<b>2.5.</b>	<b>Výroba neporézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování.-</b>	<b>- 51 -</b>
2.5.1.	Volba rozpouštědel pro přípravu neporézních PCL nanovláken .....	- 51 -
2.5.2.	Elektrostatické zvlákňování polymerních roztoků PCL .....	- 51 -
2.5.3.	Výsledky elektrostatického zvlákňování polymerních roztoků PCL .....	- 52 -
2.5.4.	Závěr k elektrostatickému zvlákňování polymerních roztoků PCL .....	- 55 -
<b>2.6.</b>	<b>Vliv teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování PCL .....</b>	<b>- 56 -</b>
2.6.1.	Volba rozpouštědel pro zkoumání vlivu teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování PCL .....	- 57 -
2.6.2.	Elektrostatické zvlákňování PCL se změnou teploty sběrného kolektoru..	- 58 -
2.6.3.	Závěr k elektrostatickému zvlákňování PCL se změnou teploty sběrného kolektoru .....	- 61 -
<b>2.7.</b>	<b>Analýza vrstev s porézními a neporézními vlákny .....</b>	<b>- 64 -</b>
2.7.1.	Výroba vrstev s porézními a neporézními vlákny .....	- 64 -
2.7.2.	Výsledky analýzy připravených nanovláknenných vrstev .....	- 66 -

---

2.7.3.	Výpočet měrného povrchu připravených nanovlákných PCL vrstev .....	68 -
2.7.4.	Závěr k analýze vrstev s porézními a neporézními vlákny.....	71 -
<b>2.8.</b>	<b>Závislost proliferace buněk na morfologii PCL nanovlákných vrstev ..</b>	<b>72 -</b>
2.8.1.	Volba PCL nanovlákných vrstev pro testování proliferace buněk .....	73 -
2.8.2.	Testování proliferace buněk na vrstvách s rozdílnou morfologií .....	73 -
2.8.3.	Závěr k proliferaci buněk na vrstvách s rozdílnou morfologií .....	75 -
<b>Závěr</b>	.....	<b>76 -</b>
<b>Použitá literatura</b>	.....	<b>79 -</b>
<b>Seznam příloh</b>	.....	<b>82 -</b>

## Seznam obrázků

<b>Obrázek 1:</b>	Strukturní vzorec PCL .....	- 14 -
<b>Obrázek 2:</b>	Polymerizace $\epsilon$ -kaprolaktonu s otevřením kruhu .....	- 15 -
<b>Obrázek 3:</b>	Schéma zařízení pro elektrostatického zvlákňování z trysky .....	- 18 -
<b>Obrázek 4:</b>	Schéma zařízení pro elektrostatické zvlákňování z volného povrchu tyčky.....	- 19 -
<b>Obrázek 5:</b>	Vliv struktury scaffoldu na připojení a infiltraci buněk .....	- 21 -
<b>Obrázek 6:</b>	SEM snímky PEI/PHBV vláken po tepelné degradaci při 210°C .....	- 24 -
<b>Obrázek 7:</b>	SEM snímky PGA/PLA vláken po extrakci PLA.....	- 25 -
<b>Obrázek 8:</b>	Schéma zařízení pro elektrostatické zvlákňování uzavřené ve vakuu se zahříváním kolektorem .....	- 26 -
<b>Obrázek 9:</b>	SEM snímky PLLA vláken vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování s přispěním zahřátého kolektoru na konkrétní teplotu ..	- 27 -
<b>Obrázek 10:</b>	SEM snímky PLLA vláken zvlákněných z roztoků o rozdílných poměrech srážedlo/rozpouštědlo.....	- 29 -
<b>Obrázek 11:</b>	Šest typů isoterem fyzikální adsorpce .....	- 32 -
<b>Obrázek 12:</b>	Zaplnění jednotlivých vrstev adsorbátu podle představy modelu BET .....	- 33 -
<b>Obrázek 13:</b>	Strukturní vzorec acetonu .....	- 37 -
<b>Obrázek 14:</b>	Strukturní vzorec DMF .....	- 37 -
<b>Obrázek 15:</b>	Strukturní vzorec DMA .....	- 38 -
<b>Obrázek 16:</b>	Strukturní vzorec DMSO .....	- 38 -
<b>Obrázek 17:</b>	Strukturní vzorec ethylacetátu .....	- 39 -
<b>Obrázek 18:</b>	Strukturní vzorec THF .....	- 40 -
<b>Obrázek 19:</b>	Schéma laboratorního zařízení pro elektrostatické zvlákňování z tyčky.....	- 41 -
<b>Obrázek 20:</b>	Přístroj ASAP 2020 od společnosti Micromeritics.....	- 43 -
<b>Obrázek 21:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím různých směsí rozpouštědel .....	- 48 -
<b>Obrázek 22:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 16 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím různých směsí rozpouštědel .....	- 54 -

<b>Obrázek 23:</b>	Schéma modifikovaného laboratorního zařízení pro zvlákňování z tyčky .....	- 57 -
<b>Obrázek 24:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel, teplota kolektoru 18°C .....	- 59 -
<b>Obrázek 25:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel, teplota kolektoru 30°C .....	- 60 -
<b>Obrázek 26:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel, teplota kolektoru 40°C .....	- 60 -
<b>Obrázek 27:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel, teplota kolektoru 50°C .....	- 61 -
<b>Obrázek 28:</b>	SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$ g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel, teplota kolektoru 60°C .....	- 61 -
<b>Obrázek 29:</b>	SEM snímky nanovlákněných vrstev vybraných pro bližší charakterizaci .....	- 63 -
<b>Obrázek 30:</b>	Snímky z fluorescenčního mikroskopu, které zobrazují hepatocyty kultivované na PCL nanovlákněných vrstvách .....	- 72 -

## Seznam symbolů a zkratk

ASAP	Accelerated surface area and porosimetry system
BET	Klasifikace adsorpčních isoterem nazvaná podle vědců Brunauera, Emmeta a Tellera
BJH	Metoda pro výpočet kumulativní distribuce pórů, nazvaná podle badatelů Barretta, Joynera a Halendy
BLAD	Bioartificial Liver Assist Device
DAPI	4,6-diamidino-2-phenylindol
DMA	N,N-dimethylacetamid
DMF	N,N-dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
GAČR	Grantová agentura České republiky
PCL	Polykaprolakton
PEG	Polyethylenglykol
PEI	Polyeterimid
PGA	Kyselina Polyglykolová
PHBV	Poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerat)
PLA	Kyselina polymléčná
PLGA	Polylaktidová-glykolová kyselina
PLLA	Kyselina poly(L-mléčná)
POE	Polyoxyethylen
PS	Polystyren
PVA	Polyvinylalkohol
PVAc	Polyvinylacetát
S(BET)	Metoda pro určování měrného povrchu pevných látek
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
TGA	Termogravimetrie
t-Plot	Metoda pro zjišťování objemu mikropórů
THF	Tetrahydrofuran
VŠCHT	Vysoká škola chemicko – technologická v Praze
WST-1 test	Test inhibice růstu buněk

---

$a$	$[\text{m}^2/\text{g}]$	Měrný povrch vláken
$\text{hm}\%$		Hmotnostní procenta
$M_n$	$[\text{g}/\text{mol}]$	Molekulová hmotnost číselná
$M_w$	$[\text{g}/\text{mol}]$	Molekulová hmotnost hmotnostní
$T_m$	$[\text{°C}]$	Teplota tání
$T_g$	$[\text{°C}]$	Teplota skelného přechodu
$p$	$[\text{Pa}]$	Tlak adsorbátu
$p_x$	$[-]$	Relativní tlak adsorbátu
$p_0$	$[\text{Pa}]$	Tlak nasycených par adsorbátu při teplotě měření
$p^{25}$	$[\text{kPa}]$	Tlak par nad rozpouštědlem
$q$	$[-]$	Tvarový faktor průřezu
$V_a$	$[\text{cm}^3/\text{g}]$	Objem plynného adsorbátu za standardních podmínek ( $0\text{ °C}$ ; $101,325\text{ kPa}$ ) adsorbovaný na jednotce hmotnosti adsorbentu
$\rho_{\text{PCL}}$	$[\text{g}/\text{cm}^3]$	Hustota PCL



## Úvod

Předpona nano- je v dnešní době skloňována v mnoha vědních oborech a nelze jí upřít nemalou popularitu, které se těší. Ani vědci z textilního odvětví nezůstávají, co se týče nanomateriálů, pozadu. Nanovlákná, která disponují celou řadou unikátních vlastností, se stala jakýmsi spojovacím článkem mezi vědními disciplínami a to zejména díky svému širokému využití. Jednou z oblastí, ve které nanovlákná začínají nacházet své uplatnění, je biomedicína, konkrétně tkáňové inženýrství. Nanovláknenné vrstvy vyrobené pomocí elektrostatického zvlákňování postupně dokazují, že jsou vhodnými kandidáty pro vývoj trojrozměrných podpůrných konstrukcí pro růst buněk. Za jejich úspěchem stojí vysoká pórovitost vrstev a vysoký měrný povrch.

Pokud je vysoký měrný povrch jednou z hlavních příčin dobré adheze buněk na nanovláknenném scaffoldu, nabízí se v této souvislosti hned několik otázek. Je možné měrný povrch nanovláknenných vrstev ještě více zvýšit? Bude zvýšený měrný povrch nanovláknenných vrstev ku prospěchu či nikoli?

Výše položené otázky nastiňují hlavní námět a myšlenku této diplomové práce a to připravit nanovláknennou vrstvu z biologicky akceptovatelného polymeru. Výjimečnost této vrstvy spočívá v tom, že nanovlákná v ní uložená by měla mít na svém povrchu póry. Hlavním předpokladem je, že póry na povrchu nanovláken zapříčiní zvýšení již zmiňovaného měrného povrchu. Tento předpoklad lze uznat pouze v případě, že bude podán dostatečný důkaz, který jej potvrdí. Více než nutné tedy bylo připravit vrstvu hladkých (neporézních) nanovláken, která měla sloužit k porovnání s vrstvou porézních vláken.

Důležité bylo vybrat polymer, jenž bude splňovat podmínku biologické akceptovatelnosti. Zvolen byl polykaprolakton (PCL), který je znám svou biokompatibilitou a biodegradabilitou, tudíž nic zásadně nebrání jeho použití v případných biomedicínských aplikacích. V tomto ohledu bylo spolupracováno s 2. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy v rámci projektu GAČR.

V současnosti je známo několik metod, kterými lze připravit porézní nanovlákná. Můžeme je rozčlenit do dvou hlavních skupin: (1) metody nepřímé a (2) metody přímé. Každá z těchto skupin se vydává zcela jiným směrem. Úskalím nepřímých metod, jež jsou založené na výrobě bikomponentního vlákna a následném odstranění vybrané komponenty, je složitost procesu. K odstranění komponenty se

využívá rozpouštění, tepelné degradace, fotodegradace atd. Oproti tomu metody přímé s sebou přinášejí výhodu přípravy porézních nanovláken přímo z polymerního roztoku. Jedná se například o elektrostatické zvlákňování trojsložkového systému rozpouštědlo/srážedlo/polymer nebo o metody náročnější z hlediska přístrojového vybavení, kdy je při zvlákňování upravována teplota kolektoru či vlhkost prostředí.

Diplomová práce je rozčleněna do dvou hlavních kapitol, teoretická a experimentální část. Teoretická část shrnuje základní poznatky a je dále členěna na pět podkapitol: vysvětlení základních pojmů, PCL, elektrostatické zvlákňování, porézní materiály a charakteristika porézních povrchů. Experimentální část je taktéž dále členěna na kapitoly: použité chemikálie, použitá zařízení, příprava roztoků PCL pro zvlákňování, výroba porézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování, výroba neporézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování, vliv teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování PCL, analýza vrstev s porézními a neporézními vlákny a proliferace buněk v závislosti na morfologii PCL nanovláknenných vrstev.

## **1. Teoretická část**

Teoretická část se zabývá stručným vysvětlením základních pojmů, které souvisí s tématem diplomové práce: tkáňové inženýrství, scaffold, biokompatibilita a biodegradabilita. Klade si za cíl čtenáře seznámit jednak s využívaným polymerem, PCL, ale také metodou používanou pro přípravu nanovláken, elektrostatickým zvlákňováním. Závěr kapitoly je věnován porézním materiálům a experimentálním metodám sloužícím k jejich charakterizaci.

### **1.1. Vysvětlení základních pojmů**

Pojmy jako tkáňové inženýrství, scaffold, biokompatibilita a biodegradabilita se prolínají textem celé diplomové práce, můžeme je proto označit za základní pojmy. Pro lepší pochopení dalších kapitol je nutné alespoň krátce objasnit význam těchto pojmů.

#### **1.1.1. Tkáňové inženýrství**

Tkáňové inženýrství by se dalo stručně definovat jako multidisciplinární obor, který aplikuje zákonitosti a metody inženýrství a přírodních věd na vývoj biologických náhrad sloužících k obnově, zachování nebo zlepšení funkcí tkání [1]. Existují tři základní zásady, které zaručují úspěch tkáňového inženýrství. V první řadě je to výroba vyhovujícího scaffoldu (vysvětleno v kap. 1.1.2.), výběr příhodných buněk a následné zajištění vhodných podmínek pro růst buněk [2].

#### **1.1.2. Scaffold**

Termín scaffold má v tkáňovém inženýrství význam podpůrné trojrozměrné konstrukce pro růst buněk. Na konstrukci ideálního scaffoldu je kladeno několik základních požadavků. Prvním z těchto požadavků je vysoká pórovitost. Minimální velikost pórů je dána průměrem buňky (jednotky až desítky  $\mu\text{m}$ ). Pokud by byly póry příliš malé, buňky by nemohly infiltrovat hmotou scaffoldu a naopak příliš velké póry zapříčiňují nesnadné ulpívání buněk. Dále je nezbytný veliký měrný povrch scaffoldu, který přispívá k adhezi, migraci a diferenciaci buněk. Scaffold by měl být

biodegradabilní (vysvětleno v kap. 1.1.3.) a rychlost degradace by měla odpovídat rychlosti růstu nové tkáně. Prvořadým parametrem pro scaffoldy je biokompatibilita (vysvětleno v kap. 1.1.3.), ale také adekvátní mechanické vlastnosti [2].

### 1.1.3. Biokompatibilita a Biodegradabilita

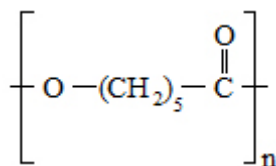
Biokompatibilita a biodegradabilita jsou klíčové pojmy zejména pro implantační materiály. Biokompatibilita neboli snášenlivost materiálu vůči biologickému prostředí se posuzuje podle interakce s tímto prostředím, zejména podle toxikologických a alergických reakcí, podle karcinogenních či mutagenních reakcí, podle vlivu na infekční procesy, podle rozsahu a kvality biodegradace atd. Důležité je, aby materiál neovlivňoval koagulaci, neuvolňoval toxické látky apod. [3].

Biodegradabilita je schopnost materiálu biologického rozkladu (biodegradace) působením mikroorganismů. Biodegradabilní materiály jsou zpravidla organické látky přírodního původu nebo umělé materiály, které mají chemické složení velice podobné přírodním látkám [1].

## 1.2. PCL

PCL je polymer, který lze zařadit mezi biodegradabilní a zároveň biokompatibilní materiály.

Strukturní jednotka PCL se skládá z pěti nepolárních methylenových skupin a jedné relativně polární esterové skupiny, viz. Obr.1. Teplota tání ( $T_m$ ) se pohybuje v rozmezí od 58 do 63°C. Skelného přechodu dosahuje PCL při teplotě ( $T_g$ ) -60°C [4].



Obr. 1: Strukturní vzorec PCL.

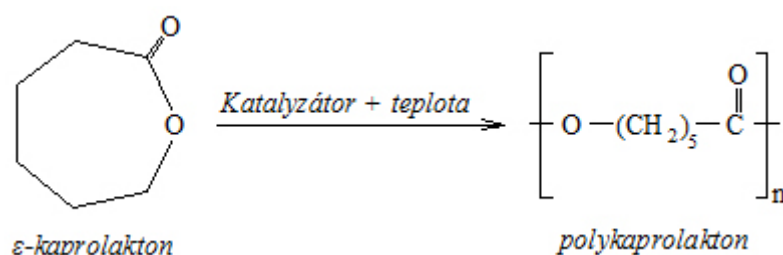
### 1.2.1. Vlastnosti PCL

PCL z chemického hlediska patří mezi alifatické polyestery se semikrystalickou strukturou. Alifatické polyestery jsou obecně náchylné k hydrolýze, ani PCL není výjimkou. Důležitou skutečností je, že rozklad hydrolýzou esterové vazby u PCL probíhá i při fyziologických podmínkách, což z něj činí vhodného kandidáta pro implantační materiály. Jedná se o netoxický, biodegradabilní, termoplastický polymer. Řadí se do skupiny tzv. bioplastů, jejichž prvotní surovinou je ropa.

Chemické složení dává PCL některé jedinečné vlastnosti. Mechanické vlastnosti jsou podobné polyolefinům díky vysokému obsahu methylenových skupin, zatímco přítomnost esterové vazby způsobuje schopnost biodegradace. Důsledkem chemického složení PCL je také dobrá slučitelnost s dalšími polymery, a tudíž možnost vzniku polymerních směsí [5].

### 1.2.2. Příprava PCL

PCL se připravuje katalytickou polymerací s otevřením kruhu (Obr.2) při teplotě 140 až 150°C. Výchozím monomerem je  $\epsilon$ -kaprolakton. Otevřením kruhu se aktivují koncové funkční skupiny, na které se postupně adují molekuly monomeru. Jako katalyzátor při polymeraci působí nejčastěji 2-ethylhexanoát, který může být nahrazen Lewisovou kyselinou nebo organickou kyselinou. Molekulová hmotnost PCL je řízena pomocí látek, které regulují délku řetězce. Pro tento účel jsou používány následující látky: voda, primární alkoholy, aminy [5].



Obr. 2: Polymerizace  $\epsilon$ -kaprolaktonu s otevřením kruhu.

### 1.2.3. Zpracování a použití PCL

Parametry zpracování PCL jsou velmi podobné polyolefinům s výjimkou zpracovatelských teplot, které jsou nižší. Kvůli možnosti hydrolytické degradace během zpracování bývá polymer nejprve sušen. Může být zpracováván technologií vstřikování i vytlačování.

Kromě tradičních aplikací PCL v oblasti obalové techniky se dnes využívá zejména ve zdravotnictví. Používá se především pro výrobu chirurgických nití, nosičů léčiv nebo intravaskulárních stentů. Skutečnost, že může být kopolymerizován s různými polymery, z něj činí atraktivní komponentu pro výrobu scaffoldů [5].

### 1.2.4. Biodegradace PCL

Degradace PCL nastává celkovou nebo povrchovou hydrolýzou esterových vazeb. Výsledným produktem procesu degradace je kyselina kapronová. Jelikož PCL patří mezi semikrystalické polymery, je příhodné se zmínit o odlišném čase degradace amorfních a krystalických oblastí. Amorfní oblasti degradují přednostněji před krystalickými. Pro PCL je typické vysoké procento krystalinity, což v důsledku znamená pomalý průběh degradace.

PCL je často používán v kombinaci s jinými polymery. Kopolymery a jeho směsi dovolují přizpůsobit mechanické vlastnosti, kinetiku degradace a další charakteristické rysy potřebám uživatele a konkrétní aplikaci [4,6].

## 1.3. Elektrostatické zvlákňování

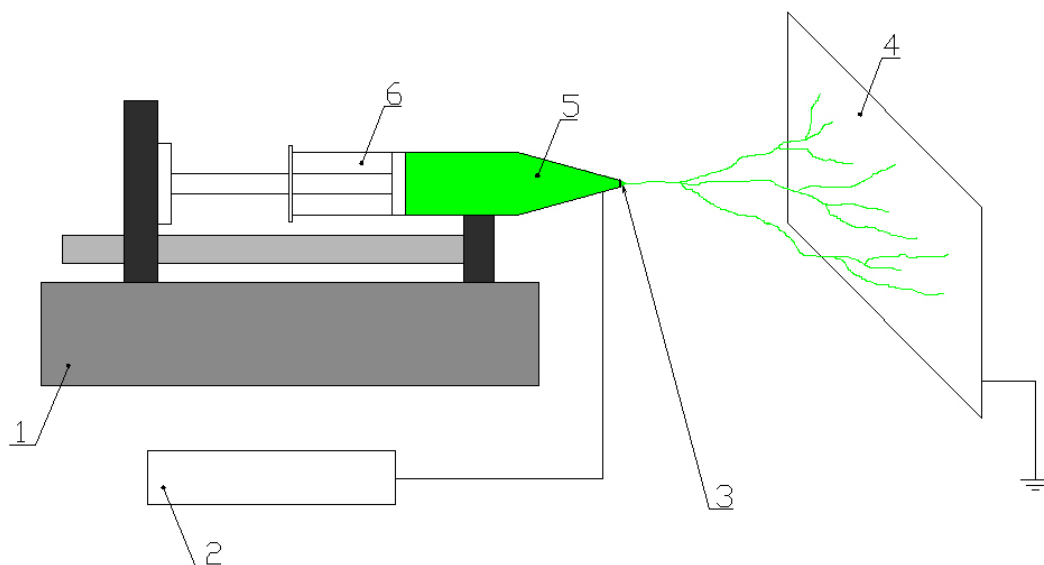
Elektrostatické zvlákňování je metoda umožňující tvorbu nanovláken, vláken s průměrem menším než jeden mikrometr. Netkané textilie, vyrobené touto v zásadě jednoduchou technologií, mají zcela unikátní vlastnosti, které je možné využít v řadě aplikací. Jako příklad je možné uvést průmyslové a jiné filtry s vysokou efektivitou, zvukově pohltivé materiály, výrobky pro krytí ran a nosiče léčiv. Neopomenutelnou oblastí je regenerativní medicína, kde slouží nanovláknenné materiály jako scaffoldy pro růst buněk [7].

Průměr vláken pohybující se v submikronové oblasti je příčinou velkého měrného povrchu vláken vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování. Další specifickou vlastností pro tento typ vláken je vysoce orientovaná krystalická struktura, která v důsledku znamená velkou pevnost. Zejména pro filtraci má význam permanentní elektrostatický náboj vázaný na materiálu. Nanovláknenné vrstvy jsou velmi porézní, póry mezi vlákny mají malé rozměry.

### 1.3.1. Princip elektrostatického zvlákňování

Základní princip metody elektrostatického zvlákňování je možné vysvětlit na nepříliš složitém laboratorním zařízení pro zvlákňování z trysky. Toto zařízení se skládá ze zdroje vysokého napětí, zvlákňovací trysky, čerpadla a kolektoru, jak je vidět na Obr. 3. Pomocí čerpadla je transportován polymerní roztok (nebo tavenina) do zvlákňovací trysky, která jej dávkuje požadovanou rychlostí. Polymerní roztok je přímo spojen se zdrojem vysokého napětí. V požadované vzdálenosti od zvlákňovací trysky je umístěn uzemněný kolektor.

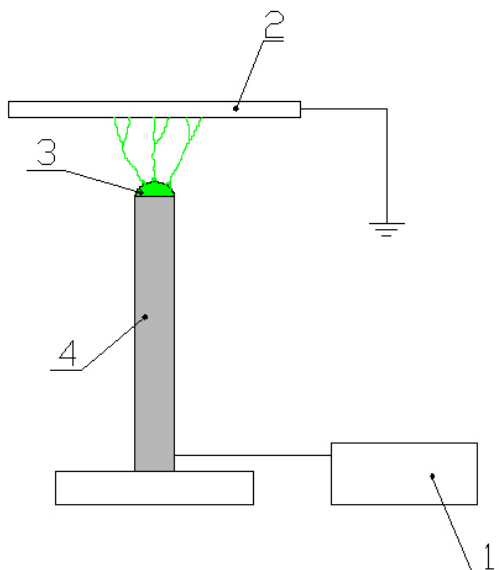
Proces elektrostatického zvlákňování začíná při aplikaci vysokého napětí na kapku polymerního roztoku, která je nadávkována zvlákňovací tryskou. Použité napětí musí být dostatečně vysoké, aby překonalo povrchové napětí roztoku polymeru. V této fázi procesu se uvnitř polymerního roztoku indukuje elektrický náboj. Ve chvíli, kdy se v roztoku nahromadí kritické množství náboje, dojde k vytvoření Taylorova kužele. Následuje proudění polymerního roztoku k uzemněnému sběrnému kolektoru. V elektrickém poli, mezi špičkou trysky a kolektorem, se proud polymerního roztoku ztenčuje a zrychluje. V průběhu usazování nanovláken na kolektor dochází k odpaření rozpouštědla a vlákna tuhnou [7].



Obr. 3: Schéma zařízení pro elektrostatické zvlákňování z trysky: 1 - dávkovací čerpadlo, 2 - zdroj vysokého napětí, 3 – Taylorův kužel, 4 – uzemněný kolektor, 5 – polymerní roztok, 6 – injekční stříkačka.

Zvlákňování z trysky není jediný možný způsob elektrostatického zvlákňování, často využívané je tzv. zvlákňování z volného povrchu tyčky (Obr. 4) nebo válečku (metoda Nanospider). Zvlákňování z tyčky je používáno v případech, kdy je potřebné zjistit zvláknitelnost daného polymerního roztoku pomocí metody Nanospider a zároveň je třeba šetřit s polymerem. Výhodou tohoto způsobu zvlákňování je potřebné malé množství roztoku, které postačuje pro získání vzorku nanovláken. Při zvlákňování z válečku je možné kontinuálně vyrábět vrstvu nanovláken.





Obr. 4: Schéma zařízení pro elektrostatické zvlákňování z volného povrchu tyčky:  
1 - zdroj vysokého napětí, 2 – uzemněný kolektor, 3 – nadávkovaný roztok polymeru,  
4 – tyčka.

### 1.3.2. Parametry elektrostatického zvlákňování

Parametry, které ovlivňují elektrostatické zvlákňování, je možné rozdělit do tří základních skupin: (1) parametry roztoku, (2) procesní parametry a (3) okolní podmínky.

Parametry roztoku mají nejvýznamnější vliv na morfologii vláken připravovaných elektrostatickým zvlákňováním. Jedním z nich je viskozita roztoku, která přímo souvisí s molekulovou hmotností polymeru a koncentrací roztoku. Je známo, že se zvyšující se viskozitou roztoku se zvyšuje průměr vznikajících vláken. Další důležité parametry roztoku jsou povrchové napětí, vodivost roztoku a permitivita rozpouštědla. Při elektrostatickém zvlákňování se usiluje o nízké povrchové napětí roztoku, toho je možné docílit přidáním povrchově aktivní látky. Oproti tomu vodivost polymerního roztoku je zvyšována například přidávkem soli. Pokud roztok polymeru obsahuje rozpouštědlo s vyšší permitivitou, je lépe zvlákňitelný.

Méně významný vliv na vláknennou morfologii mají procesní podmínky jako dodávané napětí, teplota polymerního roztoku, typ kolektoru, průměr jehly (zvlákňování trysky) a vzdálenost mezi hrotem jehly a kolektorem. Ve většině případů má vyšší dodávané napětí za následek snižování průměrů vláken a rychlejší vypařování rozpouštědla. Napětí má také významný vliv na krystalinitu vláken. Tvar, velikost,

případně pohyb kolektoru určuje rozložení nanovláken ve vznikající vlákenné vrstvě. Často sledovaným parametrem je vzdálenost mezi hrotem jehly a sběrným kolektorem, která podstatně ovlivňuje intenzitu elektrického pole.

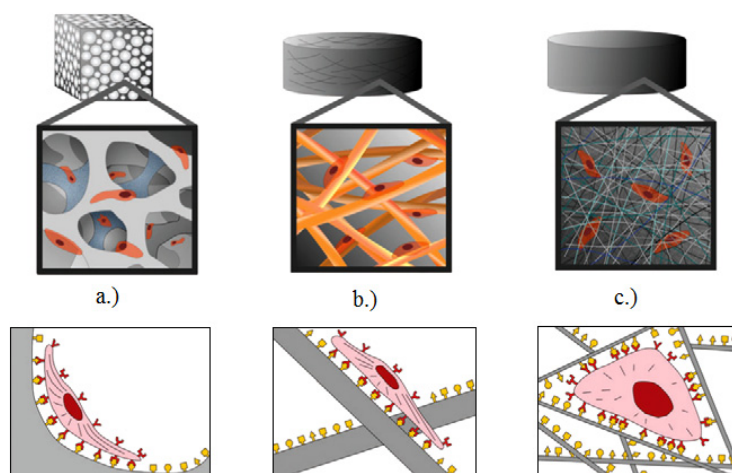
Vliv okolních podmínek – vlhkosti, tlaku a typu prostředí, není ještě zcela prozkoumán. I přesto jsou známy některé důležité skutečnosti. Například vlhkost vyšší než 50% ve spojení s polymerním roztokem obsahujícím nestálé rozpouštědlo je příčinou vzniku vláken s porézním povrchem [8].

### 1.3.3. Biomedicínké aplikace nanovláken

Biomedicína je jednou z důležitých aplikačních oblastí pro vrstvy vyrobené elektrostatickým zvlákňováním. Tyto vrstvy se mohou používat jako nosiče léčiv, chirurgické implantáty, imobilizátory enzymů, katalytické systémy a mají velký význam v tkáňovém inženýrství. Otázku, v čem tkví jedinečnost elektrostaticky zvlákňovaných vrstev pro tkáňové inženýrství, lze zodpovědět následovně: vrstvy takto vyrobené jsou vysoce mezerovité s velkým měrným povrchem, čímž napodobují strukturu a funkci přírodní extracelulární matrice. Pojem extracelulární matrice je možné chápat jako strukturu proteinů obklopující orgány. Skládá se především ze dvou extracelulárních makromolekul: proteoglykanů a vlákných proteinů o průměru v rozmezí od 50 do 150 nm v závislosti na typu tkáně. Jak bylo zjištěno, buňky se nejlépe ukotvují a množí na mikro a nanostrukturálních materiálech (Obr.5), což je hlavní důvod, proč jsou polymerní nanovlákná velmi zajímavým materiálem pro scaffoldy, které mají obnovit, udržet nebo zlepšit funkci lidských tkání. U nanovlákných vrstev jsou určitým omezením relativně malé póry mezi vlákny, které mnohdy znesnadňují infiltraci buněk objemem vrstvy. Existují však určité případy, kdy můžeme zmiňované omezení označit jako přednost. A to tehdy, jestliže je infiltrace buněk nežádoucí. Pro kůži, endotel a cévní štěpy je ideální dvourozměrný scaffold.

Je patrné, že pro každou aplikaci v tkáňovém inženýrství je nutné vhodně zvolit parametry nanovlákné vrstvy, materiál, poróznost a přizpůsobit také povrch vrstvy. Elektrostatické zvlákňování bylo shledáno jako metoda s velkým potenciálem pro tkáňové inženýrství mnoha druhů tkání včetně kostí, šlach, nervů, chrupavky, již zmiňované kůže, endotelu a cévních štěpů.

Kromě scaffoldů je možné nanovláknenné vrstvy využít jako nosiče léčiv. Elektrostatické zvlákňování je jednoduchou metodou pro plnění zmiňovaných nosičů účinnou látkou, antibiotiky, proteiny nebo DNA. Léčivo může být napojeno na povrchu nanovláken, integrováno do nanovláken, eventuálně zapouzdřeno ve vlákne s využitím koaxiálního elektrostatického zvlákňování. Vysoké napětí, aplikované při tomto procesu, má pouze malý vliv na účinnost léčiv. Charakteristické vlastnosti nanovláknenných materiálů, velký měrný povrch a malý rozměr mezer mezi vlákny, jsou pro nosiče léčiv výhodou. Oproti objemným materiálům mají nanovláknenné lékové systémy vyšší celkovou rychlost uvolňování. Další předností je možnost řízení uvolňování účinné látky změnou morfologie nanovláken, například porózitou. Nosiče léčiv jsou převážně vyráběny z biodegradabilních polymerů jako polyvinylalkoholu (PVA), kyseliny polymléčné (PLA), polyoxyethylenu (POE), PCL, polyethylenglykolu (PEG), polylaktidové-glykolové kyseliny (PLGA) a chitosanu [9,10].



Obr. 5: Vliv struktury scaffoldu na připojení a infiltraci buněk: a.) mikroporézní scaffold, b.) mikrovláknenný scaffold, c.) nanoporézní scaffold – nejvíce vazných míst [11].

## **1.4. Porézní materiály**

Porézní materiály jsou svým způsobem jedinečné, v podstatě nelze získat stejnou látku s porézní strukturou i v případě dodržení stejného postupu výroby. Systém pórů je velice úzce spjat s poměrně drobnými detaily postupu jejich vytváření. Je pravdou, že všechny póry v dané porézní látce nemají stejný tvar a rozměr. Má tedy smysl hovořit pouze o jakémsi převládajícím tvaru a rozměru pórů. Aby bylo možné vyhodnotit fyzikální a fyzikálně-chemická měření prováděná s porézní látkou s cílem získat informace o její struktuře, je nutné přistoupit k jistému zjednodušení tvaru pórů tzv. modelovému póru. Existuje celá řada modelových pórů: destičkové póry, póry ve tvaru lahviček, mezery mezi tuhými tyčinkami, protínající se válcové kapiláry, protínající se póry s obdélníkovým průřezem atd. [12].

### **1.4.1. Porézní nanovlákná a jejich výroba**

V souvislosti s nanovlákná je dost často diskutovaným pojmem porózní nanovlákných vrstev. Několik posledních let se vědci snaží najít příhodnou metodu, respektive vhodné parametry elektrostatického zvlákňování, které by zapříčinily porózní samotných nanovláken. Studie věnující se této problematice přicházejí s několika přístupy k tvorbě porézní struktury na povrchu vláken. Častou ideou je výroba bikomponentních vláken a následné odstranění vybrané komponenty, ať už rozpouštěním, tepelnou degradací nebo fotodegradací. Další cesty směřují k výrobě porézních nanovláken prostřednictvím úpravy parametrů elektrostatického zvlákňování. Je to například zvlákňování při zvýšené vlhkosti okolního prostředí, nebo s využitím ohřívaného sběrného kolektoru. Jelikož výše jmenované metody s sebou nesou menší či větší úskalí, bylo by vhodné připravit porézní nanovlákná přímou metodou, využívající takzvaný trojsložkový systém (srážedlo/rozpouštělo/polymer).

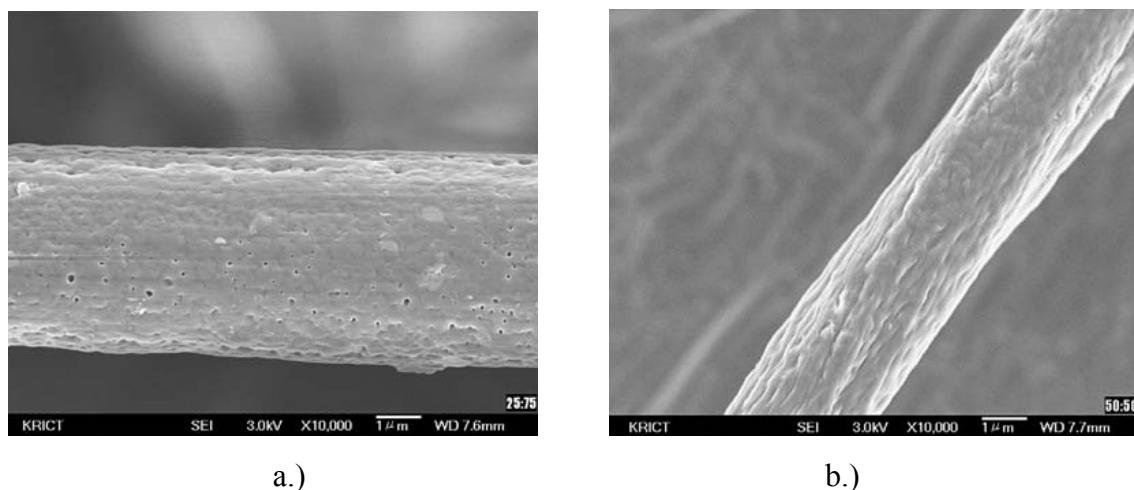
#### **1.4.1.1. Příprava porézních vláken prostřednictvím tepelné degradace jedné ze složek elektrostaticky zvlákněných polyeterimid (PEI)/poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerat) (PHBV) vláken**

Studie [13] přichází s metodou přípravy porézních nanovláken pomocí takzvané selektivní tepelné degradace, která je aplikována na dvousložková vlákna (PEI/PHBV), vyrobená pomocí elektrostatického zvláknování.

Pro experiment byly použity následující chemické látky: PEI od společnosti Aldrich, PHBV dodaný společností Zeneca a jako rozpouštědlo pro oba jmenované polymery byl zvolen chloroform, taktéž od společnosti Aldrich. Pro experiment byly připraveny 3 směsi roztoků PEI/PHBV. Jako první bylo nutné namíchat 23 hm%-ní roztok PEI a 21 hm%-ní roztok PHBV, které byly posléze hmotnostně míšeny v předem určených objemových poměrech PEI/PHBV (75/25, 50/50 a 25/75). Roztoky byly zvláknovány s využitím metody zvláknování z jehly při 15kV a vzdálenosti kolektoru od špičky jehly 15 cm. Jelikož jsou PEI a PHBV pouze částečně mísitelné, při zvláknování docházelo k rychlému odloučení fází v průběhu odpařování rozpouštědla.

Z připravených roztoků byla vlákna úspěšně zvlákněna bez ohledu na mísící poměr. Průměr vzniklých vláken se pohyboval v rozmezí od 2,6 do 15,1  $\mu\text{m}$ . U roztoků s vyšším obsahem PHBV byly sledovány menší průměry vláken. Pro vznik pórovité struktury na povrchu vláken bylo nutné odstranit jednu z komponent PEI/PHBV vláken prostřednictvím tepelné degradace. Jako vhodný kandidát pro tepelnou degradaci byl pomocí termogravimetrické analýzy (TGA) stanoven PHBV. TGA taktéž předurčila teploty vhodné pro proces degradace, 210 a 240°C.

Většina podílu PHBV z PEI/PHBV vláken degradovala při teplotě 210°C v průběhu 90 minut a při teplotě 240°C během 10 minut, přičemž podíl PEI zůstal bez známek degradace. Porézní struktury bylo dosaženo pouze v případě PEI/PHBV (75/25 a 50/50) při působení 210°C jak je ukázáno na Obr. 6, průměrná velikost pórů dosahovala 80 nm.



Obr. 6: SEM snímky PEI/PHBV vláken po tepelné degradaci při 210°C: a.) PEI/PHBV 75/25, b.) PEI/PHBV 50/50 [13].

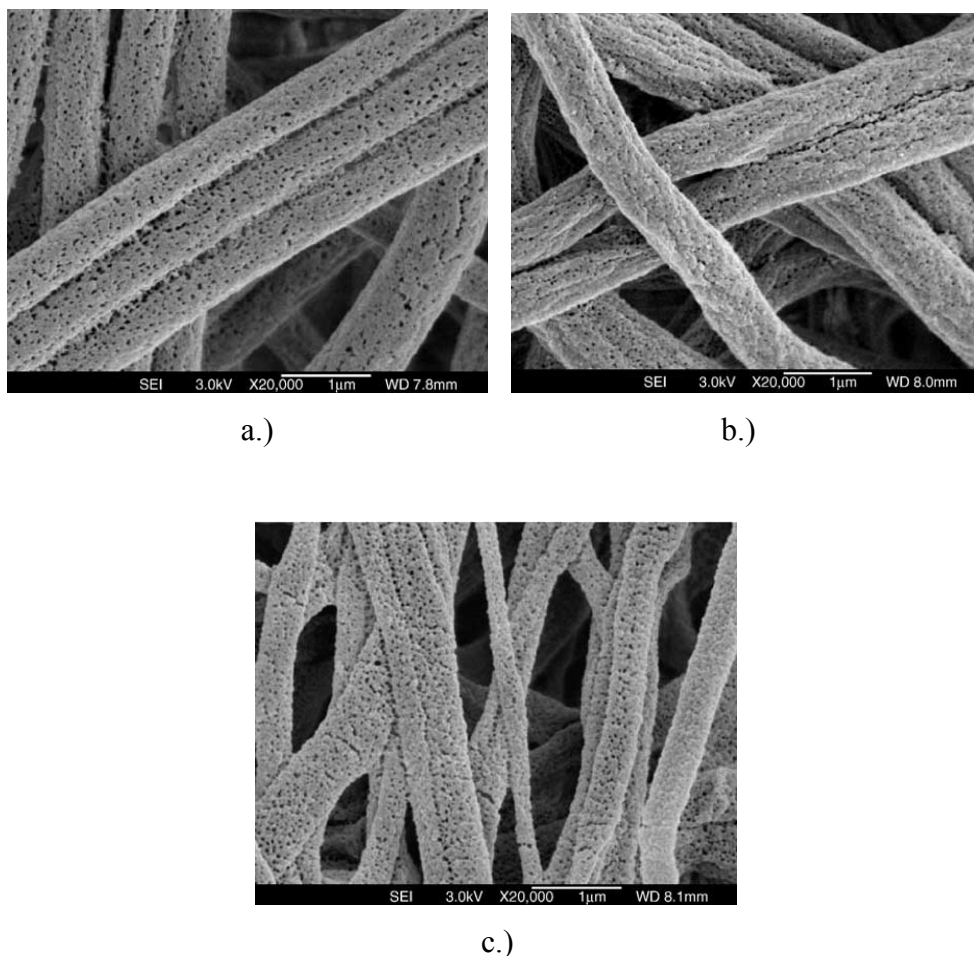
#### 1.4.1.2. Příprava porézních, extrémně jemných polyglykolových (PGA) vláken prostřednictvím rozpouštění jedné ze složek elektrostaticky zvlákněných PGA/PLA vláken

Studie [14] plynule navazuje na předešlou studii [13]. Opět rozvíjí myšlenku vytvoření porézní struktury na povrchu vláken prostřednictvím odstranění jedné ze složek vlákna, tentokrát pomocí rozpouštění.

Pro tvorbu PGA/PLA vláken byl zvolen PGA od společnosti Purac, PLA od firmy Boehringer Ingelheim a rozpouštědlo obou polymerů 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol od společnosti Aldrich. Mimo to bylo nutné zvolit rozpouštědlo, které posléze z vytvořených vláken odstraní podíl PLA. Jelikož je PLA rozpustné v běžných organických rozpouštědlech, vhodným kandidátem se stal chloroform dodaný firmou Aldrich.

Směsi PGA/PLA byly namíchány z 8 hm%-ního roztoku PGA a 5 hm%-ního roztoku PLA v předem určených hmotnostních poměrech (90/10, 70/30, 50/50, 30/70) a posléze elektrostaticky zvlákněny z jehly při 17 kV a vzdálenosti hrotu jehly od kolektoru 7 cm. Vytvořená vlákna o průměrech v rozmezí od 200 do 500 nm byla ponechána působení chloroformu po dobu 2 hodin s cílem rozpustit podíl PLA. Výsledná PGA vlákna zbavená PLA podílu měla na povrchu kruhové, trojrozměrné a navzájem spojené póry (Obr.7). Pozoruhodné je, že i vlákna PGA/PLA (30/70) si po

odstranění PLA udržela strukturu vlákna, pouze byla plochá. To ukazuje, že extrémně jemná vlákna PGA/PLA měla spojitou fázovou morfologii.



Obr. 7: SEM snímky PGA/PLA vláken po extrakci PLA: a.) PGA/PLA (70/30), b.) PGA/PLA (50/50), c.) PGA/PLA (30/70) [14].

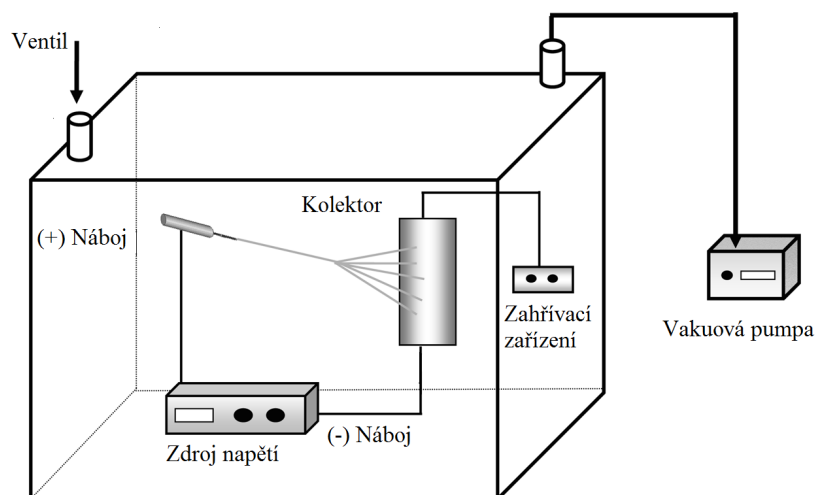
#### 1.4.1.3. Vliv teploty kolektoru na porézní strukturu vláken vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování

Studie [15] se zaměřila na vliv teploty sběrného kolektoru při tvorbě porézních vláken procesem elektrostatického zvlákňování. Bylo sledováno několik parametrů pórovité struktury vláken (velikost pórů, jejich hloubka, tvar a v neposlední řadě distribuce), které jsou do značné míry ovlivnitelné teplotou kolektoru.

Pro experiment byly použity následující polymery: kyselina poly(L-mléčná) (PLLA) ( $M_w = 650\,000$ ) od společnosti Boehringer Ingelheim a polyvinylacetát (PVAc)

( $M_w = 140\,000$ ) od společnosti McGean. Pro oba polymery bylo použito stejné rozpouštědlo - methylen chlorid. Finální koncentrace PLLA byla 3,5 hm%-ní, PVAc roztok dosahoval koncentrace 10 hm%-ních. Polystyren (PS) ( $M_w = 140\,000$ ) od společnosti Aldrich byl rozpouštěn v tetrahydrofuranu (THF), výsledný roztok dosahoval koncentrace 25 hm%-ních.

Polymerní roztoky byly zvlákňovány z jehly a to při napětí 12 až 15 kV. Vzdálenost hrotu jehly od kolektoru byla nastavována 10 až 15 cm. Zařízení pro zvlákňování bylo doplněno tzv. zahřívacím zařízením spojeným s kolektorem. Toto zařízení bylo vybaveno regulátorem teploty, což umožnilo udržování stálé teploty celé plochy kolektoru, viz Obr. 8. Celá zvlákňovací sestava byla uzavřena do vakuového exsikátoru za účelem udržování konstantní teploty (21°C) a vlhkosti (60%).

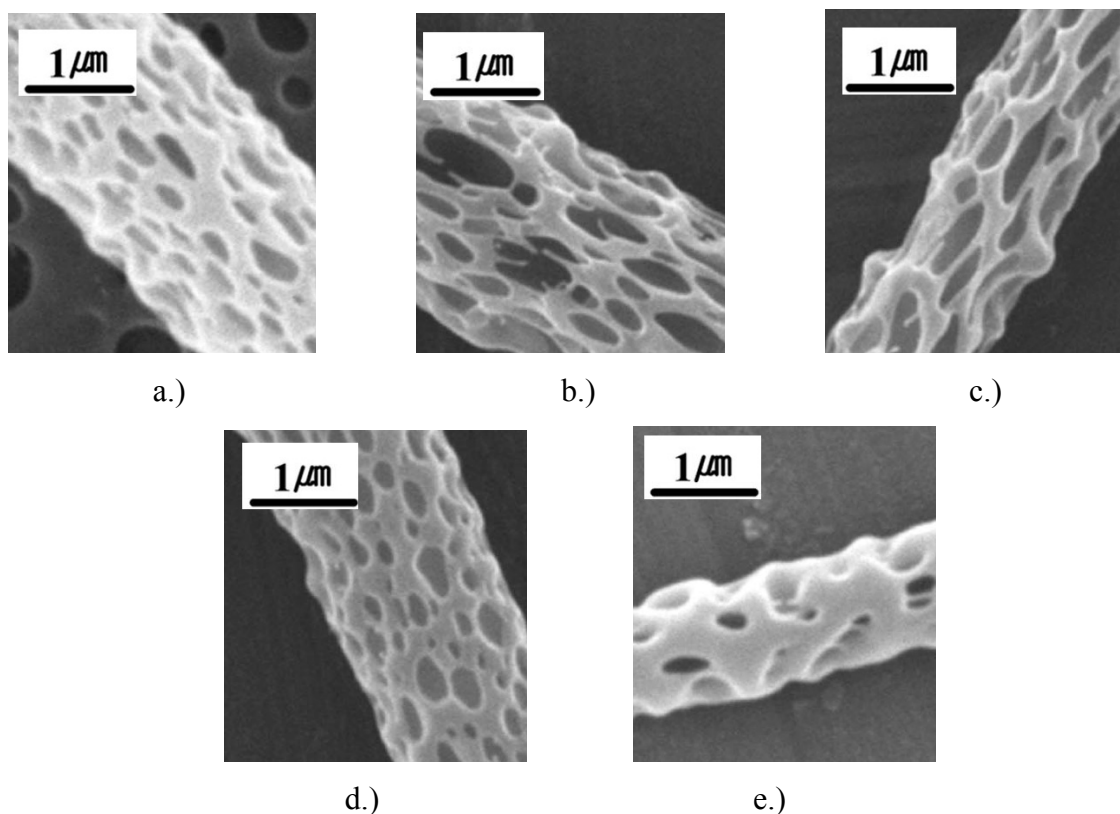


*Obr. 8: Schéma zařízení pro elektrostatické zvlákňování uzavřené ve vakuu se zahříváním kolektorem [15].*

Ze získaných výsledků je zřejmé, že morfologii elektrostaticky zvlákňovaných vláken z PLLA, PS a PVAc, kdy pro rozmíchání roztoku bylo použito nestálé rozpouštědlo, silně ovlivňuje teplota varu rozpouštědla i teplota zesklenní polymeru. Předešlé tvrzení je možné doložit výsledky experimentu prováděného s PLLA. Pokud se PLLA vlákna usazovala na kolektor o teplotě 21°C, na povrchu vláken se tvořily malé póry. Po zvýšení teploty kolektoru na 40°C vzrostla i velikost pórů. Toto chování je možné přisuzovat již zmíněné teplotě varu rozpouštědla použitého pro míchání polymeru. Během elektrostatického zvlákňování se rozpouštědlo obvykle vypařuje v prostoru mezi špičkou jehly dávající polymer a kolektorem. Ale zbytky rozpouštědla



uvnitř vlákna se vypařují díky kolektoru, který je zahřátý na teplotu ekvivalentní teplotě varu rozpouštědla. Teplota, která může být pokládána za mezní při tvorbě pórů, je teplota zesklnění polymeru. Pokud byl kolektor zahřátý na 70 °C, což je teplota vyšší než teplota zesklnění PLLA, docházelo ke zhroucení pórovité struktury. Výsledky také ukázaly, že se zvyšující se teplotou kolektoru se zvyšuje poměr šíře póru k jeho délce, tvar póru se blíží k dokonalému kruhu (Obr. 9). Stejně závěry je možné vyvodit z výsledků elektrostatického zvlákňování u PS a PVAc.



*Obr. 9: SEM snímky PLLA vláken vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování s přispěním zahřátého kolektoru na konkrétní teplotu: a.) 21 °C, b.) 40 °C, c.) 50 °C, d.) 60 °C, e.) 70 °C [15].*

#### **1.4.1.4. Vysoce porézní vlákna připravená elektrostatickým zvlákňováním trojsložkové soustavy srážedlo/rozpouštědlo/polymer**

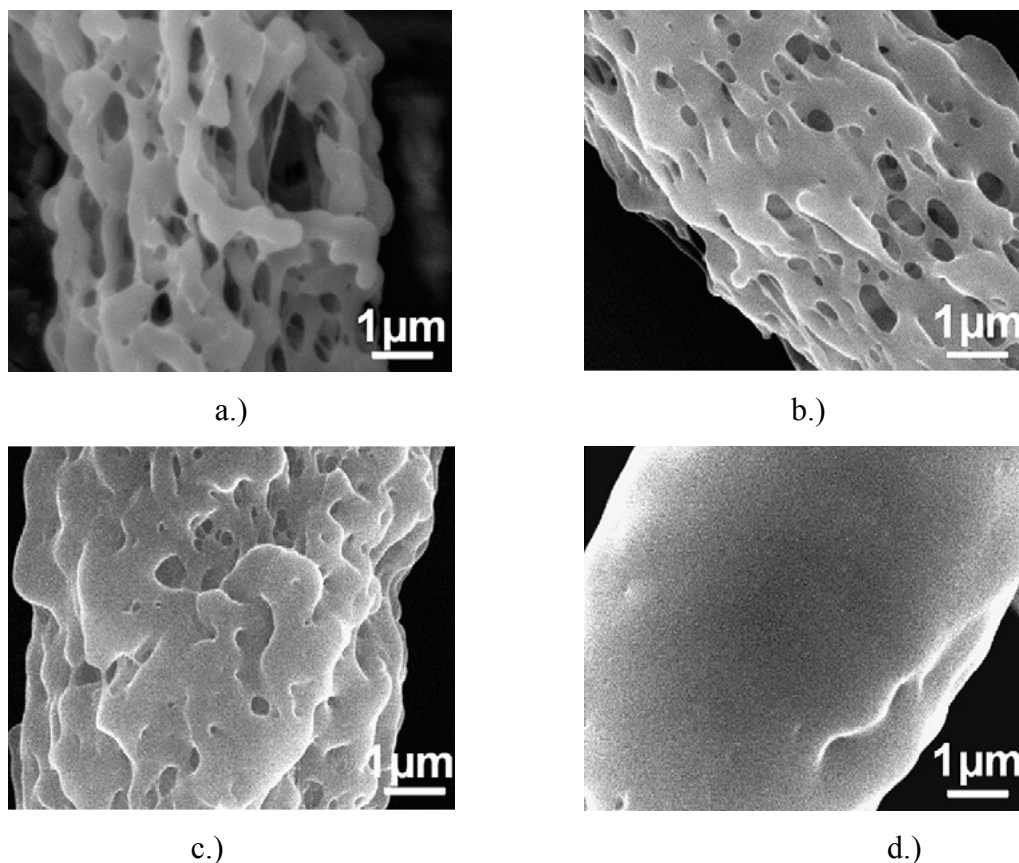
Studie [16] přichází s novým přístupem k tvorbě porézních nanovláken přímou cestou s využitím trojsložkové soustavy (srážedla/rozpouštědla a polymeru). Experiment v rámci této studie byl uskutečněn s PLLA od společnosti Guanghai Weiye Biomaterials, dichlormethanem, 1-butanolem a ethanolem od China Medicine. Pro PLLA je jmenovaný dichlormethan rozpouštědlem, oproti 1- butanolu a ethanolu, což jsou pro PLLA srážedla.

Pro elektrostatické zvlákňování bylo namícháno několik roztoků, které měly stejnou koncentraci 8 hm%-ních a rozdílný objemový poměr srážedla a rozpouštědla (40/60, 35/65, 30/70, 25/75). Zvlákňování z jehly bylo realizováno při napětí 7 kV a 10 kV, vzdálenosti kolektoru od špičky jehly 25 cm a relativní vlhkosti vzduchu 30 – 40%.

Výsledky zvlákňování roztoků, kde roli srážedla zastupoval v trojsložkové soustavě ethanol, poukázaly na nevhodnost ethanolu pro tvorbu porézních vláken. Důvodem je malý rozdíl rychlosti odpařování mezi dichlormethanem a ethanolem. Oproti tomu vysoce porézní PLLA vlákna vznikla zvlákňováním trojsložkové soustavy 1-butanol/dichlormethan/PLLA.

Závěrem je možné konstatovat, že pórovité struktury na povrchu vlákna je možné docílit, pokud je použito rozpouštědlo více těkavé než srážedlo, a aplikované napětí je dostatečně nízké. Pokud elektrostatické zvlákňování probíhá při nízkém napětí, rozpouštědlo se odpařuje rychleji než srážedlo. Je také nezbytné dodržet poměr srážedla/rozpouštědla, a to v tomto případě kolem 40/60.

Rozdíl této metody v porovnání s ostatními dříve popisovanými metodami viz kapitola 1.4.1. tkví mimo jiné i ve výsledné porézní struktuře vláken. Póry na povrchu vláken jsou beztvaré a orientované podél osy vlákna, jak je vidět na Obr.10. Velikost pórů má širokou distribuci od desítek do několika set nanometrů.



Obr. 10: SEM snímky PLLA vláken zvlákněných z roztoků o rozdílných poměrech srážedlo/rozpouštědlo: a.) 40/60, b.) 35/65, c.) 30/70, d.) 25/75 [16].

#### 1.4.2. Využití porézních nanovláken

Specifickou vlastností nanovláken je prvořadě velký měrný povrch, od něž se odvíjí mnoho aplikací. Je logické, že výskyt pórů na povrchu vláken s sebou přináší další zvětšení měrného povrchu vláken a s tím i jakýsi nadstandard oproti hladkým nanovláknům. Pokud by byla vrstva vláken s porézním povrchem využita například jako scaffold, bude značným přínosem pro pěstované buňky větší počet kotvicích bodů pro jejich uchycení a snadnější difúze živin scaffoldem. Porézní struktura povrchu vláken je výhodná také v případě kotvení nanočástic či molekul léku ve vlákenném substrátu. Kromě biomedicínských aplikací je další potenciální oblastí využití filtrace.

## 1.5. Charakterizace porézních povrchů

Porézní povrchy lze charakterizovat z hlediska měrného povrchu, distribuce objemu pórů dle velikosti (mikropóry, mesopóry), objemu pórů atd. Pro určení jmenovaných charakteristik je známa řada metod založených na principu fyzikální adsorpce (BET izotermy, BJH metoda, t-Plot aj.), popřípadě na fyzikálním jevu kapilární deprese (rtuťová porozimetrie).

Měrný povrch je plocha vztažená na jednotku hmotnosti, vyjadřuje se v  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Každá částice pevné látky má vnější a vnitřní povrch. Vnější povrchem se rozumí geometrický povrch částice, tedy viditelná část povrchu. Vnitřní povrch je povrch všech pórů a trhlin, které částici prostupují. Součet vnějšího a vnitřního povrchu dává povrch celkový. Pro porézní látky je typické, že mohou mít tak velký vnitřní povrch, že naopak jejich vnější povrch je zanedbatelný. Objem pórů zaujímá někdy i více než 50% zdánlivého objemu pevné látky.

Stejný význam jako měrný povrch má pro vlastnosti porézních látek struktura, velikost a rozměry jejich pórů. Podle Dubinina rozlišujeme: mikropóry (rozměr menší než 2 nm), mesopóry (rozměr mezi 2 a 50 nm) a makropóry (rozměr větší než 50 nm). Dubininova klasifikace vyplývá z odlišného průběhu fyzikální adsorpce plynů (např. dusíku, argonu, kryptonu aj.). V porézní látce se často vyskytují současně póry různých velikostí v určitém poměru. K jejich charakteristice je důležité znát i rozdělení velikosti pórů.

Informace o rozměrech a rozdělení pórů lze získat z hysterezních smyček na adsorpčních izotermách, optickými metodami (na mikroskopickém snímku porézního materiálu lze přímo změřit velikost pórů) nebo rtuťovou porozimetrií [12,17].

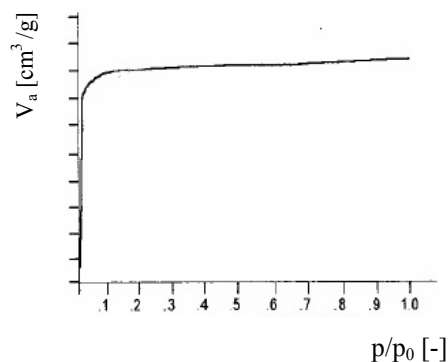
### 1.5.1. Adsorpční metody

Adsorpční metody pracují na principu fyzikální adsorpce. Vystaví-li se porézní látka (adsorbent) v uzavřeném prostoru určitému tlaku plynu nebo páry (adsorbát), začne se plyn adsorbovat na povrchu adsorbentu a v systému klesá tlak. V průběhu tohoto děje je sledována rostoucí hmotnost adsorbentu. Po jisté době se dosáhne adsorpční rovnováhy a hmotnost vzorku i tlak plynu se již nemění. Množství adsorbovaného plynu lze spočítat z přírůstku hmotnosti vzorku, nebo z poklesu tlaku adsorbátu (je-li znám objem zařízení) s použitím stavové rovnice plynu. Opakuje-li se

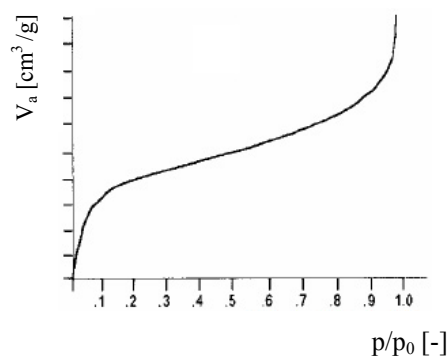
takové měření při řadě tlaků plynu a při stále stejné teplotě, je výsledkem adsorpční isoterma. Adsorpční isothermou se rozumí funkční vztah vyjadřující závislost adsorbovaného množství adsorbátu na tlaku adsorbátu za konstantní teploty.

Adsorpci způsobují síly působící mezi tuhým adsorbentem a molekulami plynného adsorbátu. Jsou-li tyto síly stejného druhu jako síly van der Waalsovy, mluvíme o fyzikální adsorpci. Fyzikální adsorpce dusíku, argonu a kryptonu při nízkých teplotách se běžně užívá pro určování měrného povrchu porézních látek.

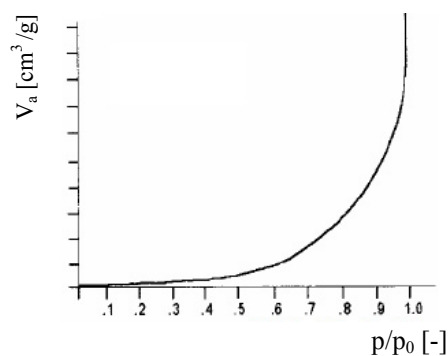
Pro fyzikální adsorpci bylo navrženo vědci Brunauem, Emmettem a Tellerem šest typů isoterem, které jsou známé jako klasifikace BET (Obr. 11). Tvar adsorpční isotermy a její příslušnost k jednomu ze šesti typů dovoluje přibližně určit texturu studovaného adsorbentu. Kromě základních šesti typů isoterem fyzikální adsorpce jsou známy i případy, které leží mezi dvěma nebo více základními typy.



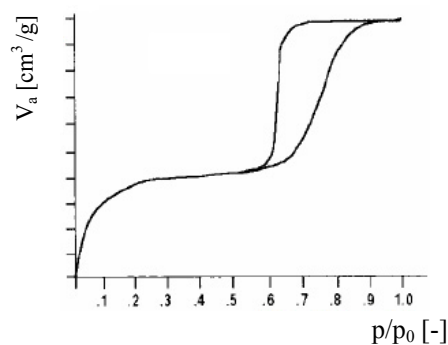
Typ I.



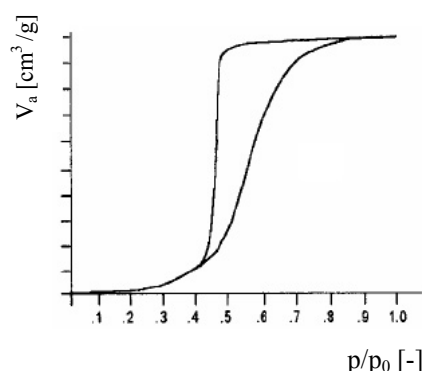
Typ II.



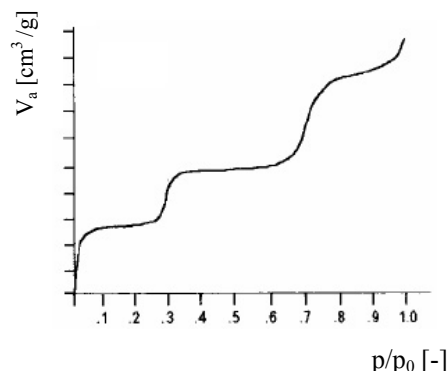
Typ III.



Typ IV.



Typ V.



Typ VI.

*Obr. 11: Šest typů isoterem fyzikální adsorpce:*

*typ I. - čistě mikroporézní adsorbent, typ II. - neporézní, případně čistě makroporézní adsorbent, typ III. - neporézní adsorbenty, u kterých je velmi slabá interakce adsorbát – adsorbent, typ IV. - mesoporézní adsorbent, typ V. - mesoporézní adsorbent, u kterého je velmi slabá interakce adsorbát – adsorbent, typ VI. - adsorpce probíhá v několika oddělených krocích v různých intervalech tlaku adsorbátu [12].*

Mezi nejdůležitější adsorpční isotermy patří Langmuirova adsorpční isoterma, isoterma typu I (Obr. 11). Podle Langmuira adsorbent obsahuje určité látkové množství adsorpčních center. Všechna tato adsorpční centra jsou stejná a na každém z nich se může adsorbovat pouze jedna molekula adsorbátu. Adsorbované molekuly se vzájemně neovlivňují. Je známo, že rychlost adsorpce je úměrná parciálnímu tlaku adsorbátu a látkovému množství neobsazených adsorpčních center. Oproti tomu rychlost desorpce adsorbovaných molekul je úměrná látkovému množství obsazených adsorpčních center.

Typickým rysem Langmuirovy isotermy je to, že při vyšším tlaku adsorbátu dojde k nasycení všech adsorpčních center a stupeň pokrytí stoupá již jen nepatrně. Naopak při velmi nízkém tlaku je závislost stupně pokrytí na tlaku téměř lineární

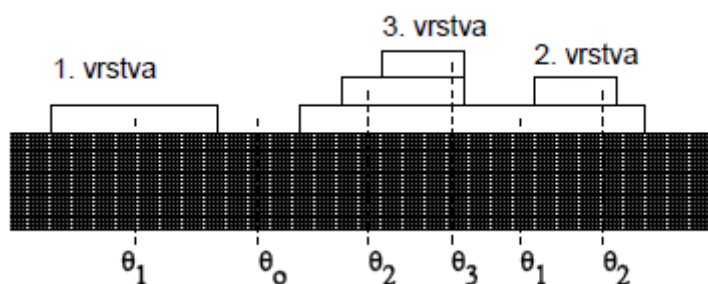
Není možné opomenout BET isotermu, která slouží k vyhodnocování měrného povrchu porézních látek. Na rozdíl od Langmuirovy isotermy model adsorpce BET předpokládá vícevrstvou adsorpci a neobsahuje předpoklad adsorpčních center. Adsorpce tedy probíhá na povrchu adsorbentu tak, že se molekuly adsorbátu ukládají na povrchu těsně vedle sebe. Adsorpce probíhá současně v různých vrstvách. Zatímco

první adsorpční vrstva ještě není zcela obsazena, dochází k adsorpci i ve druhé a případně dalších vrstvách.

Byl zaveden pojem statická monovrstva, který označuje množství adsorbátu potřebné k pokrytí adsorbentu právě jedinou vrstvou adsorbátu. Ve skutečnosti během adsorpce k vytvoření úplné adsorpční monovrstvy nedochází (Obr. 12), je však možné určit zmiňovanou statickou monovrstvu z průběhu adsorpční isotermy. Tento fakt je důležitý pro určení měrného povrchu adsorbentu. O adsorbovaném adsorbátu se předpokládá, že má charakter kapaliny.

Před použitím isotermy BET je nutno si uvědomit, že isoterma nepředpokládá přítomnost mikropórů a nebere v úvahu kapilární kondensaci. Odtud plyne, že tato isoterma by se měla používat v případě experimentálních isoterem typu II a IV.

Jelikož se předpokládá neomezená možnost tvorby více adsorpčních vrstev, může isoterma platit pouze do takových tlaků  $p_x$ , při kterých ještě nenastává kondensace adsorbátu v pórech ( $p_x > 0,25 \div 0,30$ ). Zdola je platnost isotermy omezena relativními tlaky, při kterých již nenastává objemové zaplňování mikropórů ( $p_x < 0,05$ ) [12].



Obr. 12: Zaplnění jednotlivých vrstev adsorbátu podle představy modelu BET:

$\theta_0$  – neobsazený zlomek povrchu,  $\theta_1$  – zlomek povrchu, nad kterým je pouze první vrstva adsorbátu,  $\theta_2$  – zlomek povrchu, nad kterým je první a druhá vrstva adsorbátu [12].

Na základě BET isotermy je možné určovat měrný povrch porézních materiálů, tzv.  $S(BET)$ . Při stanovení  $S(BET)$  se setkáváme s jistými omezeními. Určení měrného povrchu má smysl pouze tehdy, pokud je adsorpční isoterma typu II nebo IV a adsorbent navíc neobsahuje mikropóry. Vytyčení hranic použitelnosti  $S(BET)$  je možné vysvětlit následovně: v mikropórech nedochází k postupné adsorpci ve vrstvách, ale adsorpce probíhá mechanismem spontánního objemového zaplňování mikropórů adsorbátem v kapalně formě. Pokud tedy při adsorpci v mikropórech nedochází ke

splnění předpokladů rovnice BET, pak  $S(BET)$  nemá smysl. Jelikož mikroporézní adsorbenty vykazují isotermy typu I, je pro tento druh adsorbentů vhodnou charakteristikou objem mikropórů, nikoliv měrný povrch. Tento objem lze určit z adsorbovaného množství, které přísluší vodorovné části isotermy po přepočtu pomocí molárního objemu kapalného adsorbátu při teplotě měření.

Adsorbenty často obsahují mesopóry a zároveň mikropóry, výsledná isoterma je jakýmsi součtem isotermy typu I a IV (příp. II). V těchto případech je nutné přistoupit ke speciálním postupům, vedoucím k charakterizaci adsorbentu: využít porovnávací metody, tříparametrovou isotermu BET a nebo experimentálně odstínit mikropóry [12].

U porézních materiálů je často třeba znát kromě celkového objemu pórů tzv. distribuci velikosti pórů. To znamená přiřadit k úzkému intervalu velikostí pórů jejich objemové zastoupení v dané porézní látce. Tvar pórů, jejich velikost i délka jsou značně rozdílné, proto kvůli stanovení distribuce pórů musí dojít ke zjednodušení porézní struktury s využitím nerealistického modelu přímých, neprotínajících se válcových kapilár. Standardně lze vyhodnocovat distribuce pórů z adsorpční, nebo desorpční větve isotermy fyzikální adsorpce dusíku [12].

### 1.5.2. Rtuťová porozimetrie

Jak již bylo dříve zmíněno, rtuťová porozimetrie je metodou studia porézních látek, která je založena na jevu kapilární deprese. Rtuť je využívána kvůli svému vysokému povrchovému napětí, nesmáčí většinu porézních látek. Rtuť může vniknout do pórů pouze za působení vnějšího tlaku. Tlak potřebný pro vtlačení rtuti do pórů závisí na jejich poloměru a to tak, že čím je pór užší, tím je potřebný tlak vyšší. Moderní komerční rtuťové porozimetry pracují běžně do tlaku 200 až 400 MPa, z čehož vyplývá, že poloměr nejúžších zaplněných pórů je 3,1 až 1,6 nm.

Hlavní částí rtuťových porozimetrů je dilatometr, který obsahuje vzorek zkoumané porézní látky. Dilatometr se za vakua naplní rtutí, poté se umístí do autoklávy, jenž je zcela zaplněn olejem nebo alkoholem. V autoklávu se postupně zvyšuje tlak, každý přírůstek tlaku způsobí, že rtuť vnikne do další frakce pórů menšího poloměru. Objem rtuti vtlačené do pórů při určitém tlaku se zjišťuje z poklesu menisku rtuti v kalibrované kapiláře dilatometru.



Z naměřených údajů lze zjistit tzv. kumulativní distribuci pórů (integrální distribuce). Výsledkem záporně vzaté derivace kumulativní distribuce pórů je frekvenční křivka rozdělení objemu pórů podle poloměru. Frekvenční křivka názorně ukazuje, které póry přispívají k celkovému objemu pórů nejvíce [12,17].

## 2. Experimentální část

Experimentální část má několik hlavních úkolů, které se snaží systematicky řešit. Prioritní úlohou je výroba nanovláknenné vrstvy obsahující porézní vlákna metodou elektrostatického zvlákňování z biomedicínkého polymeru PCL. K tomu, aby bylo možné objektivně srovnávat rozdíly měrných povrchů porézních vláken oproti vláknům hladkým, bylo zapotřebí připravit z PCL taktéž nanovláknennou vrstvu obsahující hladká vlákna. Vyrobené vrstvy byly posléze testovány z hlediska měrného povrchu. V zájmu této práce bylo také zjistit, jaký vliv má teplota sběrného kolektoru na průběh zvlákňování a výslednou morfologii vláken. Ukončením experimentů bylo testování proliferace buněk v závislosti na morfologii nanovláknenných vrstev ve spolupráci s 2. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy.

Před samotným popisem prováděných pokusů se experimentální část krátce soustředí na přiblížení užívaných chemických látek a použitého přístrojového vybavení.

### 2.1. Použité chemikálie

Následující kapitola si klade za cíl informovat o chemických látkách, použitých ve všech provedených experimentech. Zahrnuje stručné charakteristiky použitého polymeru a rozpouštědel.

#### 2.1.1. PCL

Jako vhodný kandidát pro přípravu porézních nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování byl vybrán PCL. Jak bylo uvedeno v teoretické části, tento polymer patří mezi biodegradabilní a biokompatibilní polymery (více viz kap. 1.2), čímž splňuje podmínku biologické akceptovatelnosti, o které hovoří zadání diplomové práce. Studie [2] přichází s veskrze kladnými výsledky ohledně použití PCL jako scaffoldu pro růst buněk, což taktéž ovlivnilo volbu polymeru ve prospěch PCL.

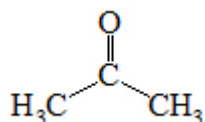
Pro experiment byly využity dva druhy PCL, zakoupené od firmy Aldrich, které se od sebe lišily molekulovou hmotností. Převážně byl používán PCL s průměrnou molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000\text{ g/mol}$ , druhý PCL měl průměrnou molekulovou hmotnost  $M_n = 80\,000\text{ g/mol}$ .

### 2.1.2. Rozpouštědla

Tato kapitola se snaží přiblížit rozpouštědla užívaná pro přípravu polymerních roztoků PCL z hlediska základních fyzikálních a chemických vlastností.

#### Aceton

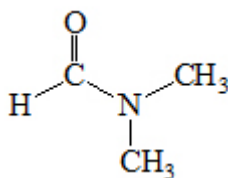
Aceton je triviální název pro propan-2-on či dimethylketon. Sumární vzorec acetonu je  $C_3H_6O$ , jeho strukturní vzorec je vidět na Obr. 13. Jedná se o bezbarvé, vysoce hořlavé rozpouštědlo se specifickým zápachem. Pro experiment byl využit 99,5% aceton od firmy Penta s molární hmotností 58,08 g/mol, teplotou varu 56,53 °C a hustotou 0,79 g/cm<sup>3</sup> [18].



Obr. 13: Strukturní vzorec acetonu.

#### N,N-dimethylformamid (DMF)

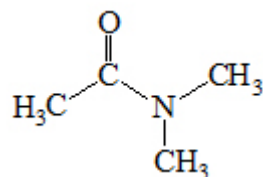
Pro N,N-dimethylformamid neboli N,N – dimethylamid kyseliny mravenčí je běžně užívaná zkratka DMF. Pro experiment byl využit 99,5%, dodaný firmou Penta. Sumární vzorec DMF je  $C_3H_7NO$ , přičemž Obr. 14 znázorňuje jeho strukturní vzorec. DMF patří mezi bezbarvé kapaliny s charakteristickým zápachem, molární hmotností 73,1 g/mol, teplotou varu 153°C a hustotou 0,948 g/cm<sup>3</sup> [18].



Obr. 14: Strukturní vzorec DMF.

**N,N-dimethylacetamid (DMA)**

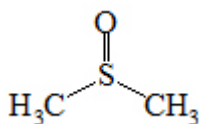
DMA zakoupený u společnosti Aldrich je jedním z organických rozpouštědel využívaných pro experimentální účely v této práci. Jeho sumární vzorec je  $C_4H_9NO$  (strukturní vzorec je na Obr. 15). DMA můžeme zařadit mezi bezbarvé kapaliny s vůní čpavku. Charakteristická je molární hmotnost 87,12 g/mol, teplota varu 165 °C a hustota 0,94 g/cm<sup>3</sup> [19].



Obr. 15: Strukturní vzorec DMA.

**Dimethylsulfoxid (DMSO)**

Experimenty byly prováděny s 99%-ním DMSO od firmy Penta. DMSO má sumární vzorec  $C_2H_6OS$ , jeho strukturní vzorec je na Obr. 16. Jedná se o bezbarvou kapalinu s česnekovým zápachem. Molární hmotnost dosahuje 78,13 g/mol, teplota varu 189°C a hustota činí 1,1 g/cm<sup>3</sup> [18].



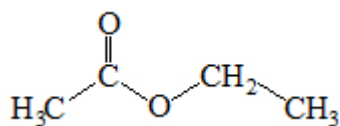
Obr. 16: Strukturní vzorec DMSO.

**Ethanol**

Ethanol, jinak také ethylalkohol, je dalším rozpouštědlem využitým v experimentech této diplomové práce. Jeho sumární vzorec je  $C_2H_6O$ . Jedná se o vysoce hořlavou bezbarvou kapalinu. Vyznačuje se ostrou alkoholickou vůní. Molární hmotnost ethanolu dosahuje 46,07 g/mol, teplota varu 78,3 °C a hustota 0,789 g/cm<sup>3</sup> [20].

### Ethylacetát

Pro experimenty byl používán ethylacetát od firmy Lachema. Jedná se o ester ethanolu a kyseliny octové, je znám pod systematickým názvem ethyl-ethanoát nebo též pod triviálním názvem octan ethylnatý. Sumární vzorec této bezbarvé kapaliny se sladkou vůní je  $C_4H_8O_2$ , strukturní vzorec je na Obr. 17 níže. Důležitými vlastnostmi ethylacetátu jsou molární hmotnost 88,105 g/mol, teplota varu 77,1 °C a hustota 0,897 g/cm<sup>3</sup> [21].



Obr. 17: Strukturní vzorec ethylacetátu.

### Chloroform

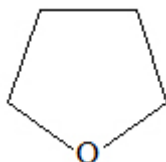
Chloroform neboli trichlormethan má sumární vzorec  $CHCl_3$ . Pro účely experimentu byl používán 99,8% chloroform od firmy Penta. Jedná se o zdraví škodlivou, bezbarvou, nehořlavou, těkavou kapalinu. Vlastnosti chloroformu deklarované výrobcem jsou: molární hmotnost 119,38 g/mol, teplota varu 61,1 °C a hustota 1,48 g/cm<sup>3</sup> [18].

### Methanol

V experimentu bylo v několika případech využito methanolu. Tento nejjednodušší alkohol má sumární vzorec  $CH_4O$ . Typický je pro něj alkoholický zápach. Je bezbarvý, těkavý, hořlavý a silně jedovatý. Molární hmotnost methanolu dosahuje 32,042 g/mol, teplota varu 64,7 °C a hustota 0,791 g/cm<sup>3</sup> [22].

### Tetrahydrofuran (THF)

Dalším z řady rozpouštědel používaných v experimentech byl 99,5% THF od společnosti Lach-ner, jehož sumární vzorec je  $C_4H_8O$ . Strukturní vzorec je na Obr. 18. Tato bezbarvá, vysoce hořlavá a dráždivá kapalina má molární hmotnost 72,11 g/mol, teplotu varu 66 °C a hustotu 0,889 g/cm<sup>3</sup> [18].



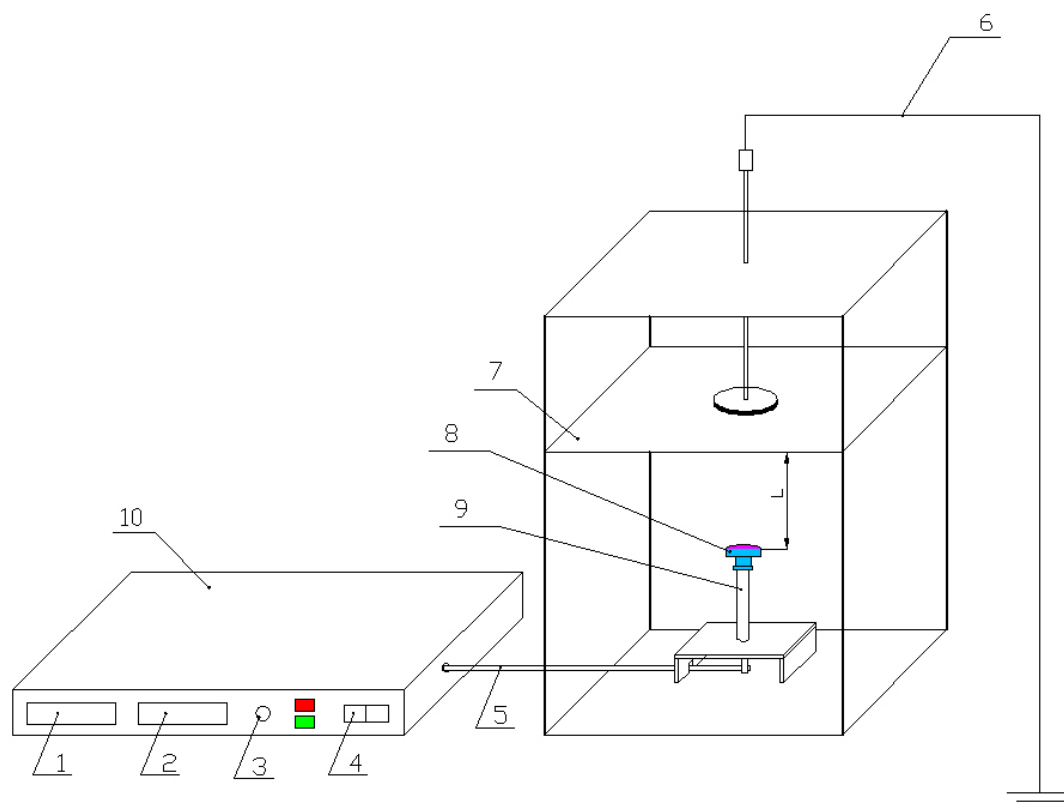
Obr. 18: Strukturní vzorec THF.

## 2.2. Použité zařízení

Úkolem kapitoly 2.2. je shrnout poznatky o zařízeních používaných pro vytvoření nanovláknenných vrstev a přístrojích umožňujících charakterizování již vyrobených vrstev.

### 2.2.1. Zařízení pro elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování bylo prováděno na laboratorním zařízení pro zvlákňování z tyčky viz. Obr. 19. Na tomto zařízení je možné upravovat následující parametry: vzdálenost sběrného kolektoru od tyčky (případně nástavce na tyčku) a hodnotu vysokého napětí. U používaného zdroje vysokého napětí Spellman SL 150 je možné volit napětí z rozsahu přístroje (0 ~ 70 kV). Celé zařízení je umístěno v digestoři, což umožňuje odsávání par organických rozpouštědel vznikajících při zvlákňování.



Obr. 19: Schéma laboratorního zařízení pro elektrostatické zvlákňování z tyčky:

1 - displej pro zobrazení proudu, 2 - displej pro zobrazení nastaveného napětí,  
 3 - regulace napětí, 4 - zapnutí a vypnutí zdroje vysokého napětí, 5 - přívod vysokého  
 napětí k tyčce, 6 – uzemnění kolektoru, 7 – sběrný kolektor, 8 – nástavec na tyčku  
 s nadávkovaným polymerním roztokem, 9 – tyčka, 10 - zdroj vysokého napětí,  
 $L$  – vzdálenost sběrného kolektoru od nástavce na tyčku.

### 2.2.2. Rastrovací elektronový mikroskop (SEM)

Pro zobrazení PCL nanovláčených vrstev, elektrostaticky zvlákněných na podkladovou textilií či papír, bylo využito rastrovacího elektronového mikroskopu Vega TS 5130 od firmy Tescan. Tento typ mikroskopu umožňuje zvětšení až 3 nm. Používané urychlovací napětí se pohybuje v rozmezí od 200 V do 30 kV. Zdrojem svazku elektronů je wolframová žhavená katoda. Proud ve stopě dosahuje 1 pA až 2  $\mu$ A. Dalším z parametrů zmiňovaného mikroskopu je rastrovací rychlost (600 ns až 10 ms na pixel). Všechny funkce mikroskopu jsou řízeny pomocí myši a trackballu prostřednictvím programu VEGA TC v operačním systému MS Windows [23].

Pro zkoumání vzorků pomocí SEM bylo nutné připravit speciální preparáty. Nejprve byly vzorky oboustrannou lepicí páskou připevněny na kovovou podložku, následovalo umístění vzorků do naprašovacího zařízení SCD 030 od firmy Balzers. V tomto zařízení došlo k nanesení tenké vodivé vrstvy zlata (10 – 30 nm) na povrch vzorku.

Výsledkem zkoumání vzorků pomocí SEM je snímek zahrnující několik důležitých údajů a to především aplikované zvětšení mikroskopu a měřítko. Tyto údaje jsou klíčové jak při vizuálním posouzení vzorků, tak při vyhodnocení s pomocí softwarů pro obrazovou analýzu. V této práci byl pro analýzu vybraných snímků používán software Lucia G od firmy Laboratory Imaging.

### **2.2.3. Zařízení pro měření textury sorpční technikou**

Pro stanovení měrného povrchu a pórovité mezostruktury a mikrostruktury PCL nanovlákných vrstev bylo využito přístroje ASAP 2020 od společnosti Micromeritics. Testování vrstev na zmiňovaném přístroji probíhalo ve spolupráci s VŠCHT Praha, konkrétně Ústavem anorganické technologie.

ASAP 2020 je plně automatizované zařízení, které využívá sorpční techniky pro měření textury. Skládá se ze dvou nezávislých vakuových systémů, z nichž jeden je určený pro analýzu vzorků a druhý pro úpravu vzorků. ASAP 2020 je vybaven přívody plynu a dvoupolohovým odplynovacím systémem. Pro měření je možný výběr z několika sorbatů ( $N_2$ , Ar, Kr). V převážné většině případů je využívána adsorpční isoterma  $N_2$ , ze které je posléze možné získat měrný povrch mezopórů pomocí např. metody BET. Distribuce objemu a plocha mezopórů se určuje pomocí BJH metody. Rozsah přístroje umožňuje měření měrného povrchu od 0,1 do 3 000  $m^2/g$  a průměru pórů od 0,35 do 300 nm. Pro prezentaci výsledků je ASAP 2020 vybaven softwarem s velkou flexibilitou analýzy naměřených dat [24].





Obr. 20: Přístroj ASAP 2020 od společnosti Micromeritics [24].

### 2.3. Příprava roztoků PCL pro zvlákňování

PCL je standardně dodáván ve formě granulí, tudíž před samotným zvlákňováním muselo dojít k procesu rozpouštění PCL ve zvolených organických rozpouštědlech. Rozpouštědla byla volena na základě diplomových prací [25] a [26], zabývajících se elektrostatickým zvlákňováním PCL.

PCL byl v převážné většině případů rozpouštěn ve směsi rozpouštědel. Je důležité podotknout, že tato rozpouštědla byla ve zvolených poměrech míchána objemově, kdežto míchání PCL s rozpouštědlem (směsí rozpouštědel) bylo prováděno hmotnostně. Pro nadávkování příslušných objemů rozpouštědel byly využity tzv. nastavitelné pipety firmy Biohot proline. Hmotnostní směšování bylo prováděno na trojmístných digitálních vahách SCALTEC SBC 41.

Rozpouštění granulátu PCL probíhalo na magnetickém míchadle od firmy Fischer Scientific, které bylo nastavováno na 300 ot/min. Pokud bylo použito rozpouštědlo, ve kterém je PCL za studena nerozpustný (např. ethylacetát, DMF a aceton/ethanol – 7/3), bylo nutné vznikající roztok během míchání zahřívat na 30°C. Díky intenzivnímu míchání na magnetickém míchadle se doba rozpouštění PCL granulí v rozpouštědlech pohybovala okolo 18 hodin.

## 2.4. Výroba porézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování

Jak již bylo řečeno v kapitole 1.4.1., pro přípravu porézních nanovláken existuje řada metod. Tyto metody je obecně možné rozdělit na přímé a nepřímé. U nepřímých metod se setkáváme s obtížným odstraňováním jedné z komponent bikomponentního vlákna. Oproti tomu řada přímých metod si žádá dodržení specifických podmínek, jako například vysokou relativní vlhkost okolního vzduchu, což vyžaduje speciální uzpůsobení laboratorního zařízení pro elektrostatické zvlákňování.

Po zkonstatování všech kladů a záporů výše popisovaných metod byla shledána jako nejatraktivnější pro výrobu porézních PCL vláken metoda využívající tzv. trojsložkové soustavy rozpouštědlo/srážedlo/polymer. Tato technika byla využívána v experimentech této diplomové práce prováděných s cílem vyrobit porézní nanovlákna.

### 2.4.1. Volba rozpouštědel pro přípravu porézních PCL nanovláken

Podstatnou roli při aplikaci metody využívající trojsložkové soustavy hraje volba rozpouštědel. V experimentu bylo nezbytné volit pro namíchání roztoků PCL vždy dvě rozpouštědla, z nichž jedno se chovalo k PCL jako rozpouštědlo a druhé bylo pro PCL srážedlem. Další podmínkou, kterou bylo nutné dodržet, aby vznikala při elektrostatickém zvlákňování porézní vlákna, je správný objemový poměr rozpouštědla/srážedla. Ohled byl brán taktéž na hodnotu tlaku páry nad rozpouštědlem  $p^{25}$  rozpouštědla a srážedla. Jak vyplývá se studie [16], rozpouštědlo by mělo mít vysokou hodnotu tlaku páry nad rozpouštědlem a naopak srážedlo by mělo mít tuto hodnotu nízkou. V diplomové práci [25] se podařilo vyrobit porézní vlákna z PCL o molekulové hmotnosti  $M_n = 42\,500$  g/mol. Proto bylo snahou využít pro dostupný PCL o molekulové hmotnosti  $M_n = 60\,000$  g/mol shodných směsí rozpouštědla/srážedla s identickým objemovým zastoupením. Pro přehlednost jsou zvolené směsi rozpouštědla/srážedla shrnuty v Tab. 1.

Tab. 1: Souhrn směsí rozpouštědel používaných pro elektrostatické zvlákňování PCL ( $M_n = 60\,000\text{ g/mol}$ ) s cílem vyrobit porézní vlákna.

Směsi rozpouštědel		
THF/DMSO - 9/1 (obj.)	THF (rozpuštědlo - $p^{25}$ = 26,3 kPa)	DMSO (srážedlo - $p^{25}$ = 0,08 kPa)
Ethylacetát/DMSO - 9/1 (obj.)	Ethylacetát (rozpuštědlo - $p^{25}$ = 12,3 kPa)	DMSO (srážedlo - $p^{25}$ = 0,08 kPa)

#### 2.4.2. Elektrostatické zvlákňování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL

Pro elektrostatické zvlákňování bylo namícháno dvanácti roztoků s cílem vyrobit porézní nanovlákna. Pro míchání roztoků byl používán již zmíněný PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000\text{ g/mol}$ . Roztoky se od sebe lišily hmotnostní koncentrací (8 až 18 hm.%) a použitou směsí rozpouštědla/srážedla, která byla stejná vždy pro šest po sobě jdoucích roztoků (Tab. 2). Je dobré poznamenat, že směs rozpouštědla/srážedla se ve výsledku chovala k PCL jako rozpouštědlo.

Elektrostatické zvlákňování všech dvanácti roztoků probíhalo na zařízení specifikovaném v kapitole 2.2.1. Na povrch nástavce na tyčku byl dávkován pokaždé stejný objem polymerního roztoku, přibližně 2 ml. Taktéž parametry nastavované na laboratorním zařízení pro zvlákňování z tyčky byly pro všechny testované roztoky konstantní. Hodnota napětí dosahovala 30 kV a vzdálenost uzemněného sběrného kolektoru od povrchu nástavce na tyčku byla 10 cm. Na sběrný kolektor byl upevněn černý papír, sloužící jako podklad pro usazování vláken. Černá barva papíru byla zvolena záměrně, jelikož tvoří kontrast s barvou vláken. Z pokrytí papíru vlákny lze snadněji vizuálně odhadnout intenzitu zvlákňování.

*Tab. 2: Přehled namíchaných roztoků pro elektrostatické zvlákňování trojsložkového systému PCL/rozpouštědlo/srážedlo.*

<b>Směs rozpouštědel</b>	<b>Objemový poměr</b>	<b>Koncentrace roztoku [hm.%]</b>
THF/DMSO	9/1	8
THF/DMSO	9/1	10
THF/DMSO	9/1	12
THF/DMSO	9/1	14
THF/DMSO	9/1	16
THF/DMSO	9/1	18
ethylacetát/DMSO	9/1	8
ethylacetát/DMSO	9/1	10
ethylacetát/DMSO	9/1	12
ethylacetát/DMSO	9/1	14
ethylacetát/DMSO	9/1	16
ethylacetát/DMSO	9/1	18

### **2.4.3. Výsledky elektrostatického zvlákňování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL**

Nejprve byly elektrostaticky zvlákňovány roztoky s nízkou hmotnostní koncentrací (8, 10 a 12 hm.%). Hodnoty koncentrace byly zvoleny na základě diplomové práce [25], ve které bylo využíváno PCL s  $M_n = 42\,500$  g/mol a jako veskrze ideální koncentrace roztoků se jevila 10 hm.% koncentrace. Průběh zvlákňování a posléze i snímky SEM vyloučily toto rozmezí koncentrací jako příhodné pro vytvoření uspokojivých porézních vláken z PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol. Při elektrostatickém zvlákňování docházelo spíše ke sprejování, což prokázaly SEM snímky nanovláknenných vrstev, na kterých bylo vidět velké množství defektů a segmentů. Značný úspěch těchto pokusů je však možné spatřovat v prvních náznacích porézní struktury na vláknech. Při posuzování nanovláknenných vrstev pomocí SEM byl upozorován u dvou vzorků výskyt pórů jak na četných defektech, tak na samotných vláknech. Jednalo se o elektrostaticky zvlákněné roztoky PCL s koncentrací 12 hm.%, kdy jako rozpouštědlo bylo použito THF/DMSO (9/1 obj.) a ethylacetát/DMSO (9/1 obj.).

V následujících pokusech o výrobu porézních nanovláken bylo nutné řešit problém nadměrného množství defektů, vyskytujících se ve vláknenných vrstvách. Východiskem pro tento problém se stalo zvýšení hmotnostní koncentrace roztoků PCL. Proto byly namíchaný a posléze elektrostaticky zvlákněny roztoky PCL s koncentrací

14, 16 a 18 hm.%. Nazvlákněné vrstvy byly opět podrobeny analýze s použitím SEM, jejíž výsledky byly veskrze pozitivní. Zvýšení koncentrace sice nevedlo k úplné eliminaci defektů u jednotlivých vlákenných vrstev, ale jejich počet se snížil. Nanovlákněné vrstvy, které byly zvlákněny ze 14 hm.% roztoků, obsahovaly velké defekty s porézním povrchem, vlákna ve vrstvách byla tenká a viditelně porézní. S růstem koncentrace se zvětšoval průměr vláken a poróznost byla více patrná, segmentů na vrstvách ve většině případů ubylo, ale zvětšila se jejich velikost.

Shrneme-li pokusy o výrobu porézních nanovláken, lze konstatovat, že nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití PCL roztoků s 18 hm.% koncentrací bez ohledu na použitou směs rozpouštědel, THF/DMSO (9/1 obj.) nebo ethylacetát/DMSO (9/1 obj.).

Průběh elektrostatického zvláknování u všech zvláknovaných roztoků je zanesen v Tab. 3, jedná se o vizuální hodnocení procesu.

*Tab. 3: Zhodnocení elektrostatického zvláknování (+++ vysoká intenzita elektrostatického zvláknování, ++ zvláknování probíhalo, + zvláknování téměř neprobíhalo).*

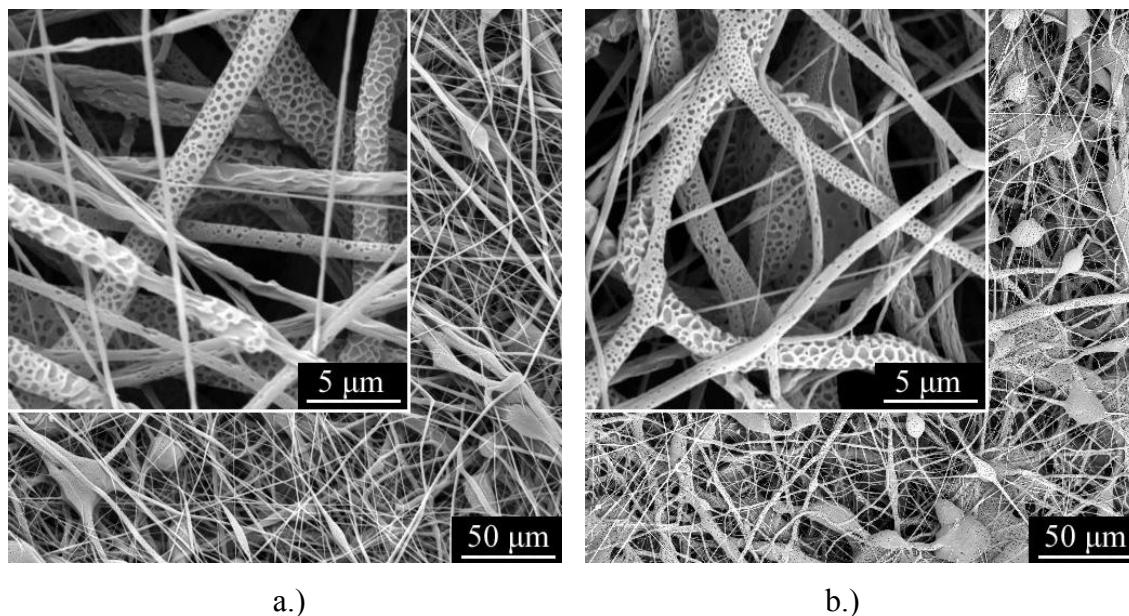
Směs rozpouštědel	Koncentrace roztoku [hm.%]	Průběh elektrostatického zvláknování
THF/DMSO - 9/1 obj.	8	+
THF/DMSO - 9/1 obj.	10	++
THF/DMSO - 9/1 obj.	12	++
THF/DMSO - 9/1 obj.	14	+++
THF/DMSO - 9/1 obj.	16	+++
THF/DMSO - 9/1 obj.	18	+++
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	8	+
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	10	++
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	12	++
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	14	+++
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	16	+++
ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.	18	+++

#### **2.4.4. Závěr k elektrostatickému zvláknování trojsložkového systému - rozpouštědlo/srážedlo/PCL**

V závěru této kapitoly je možné zkonstatovat, že se podařilo připravit porézní PCL nanovlákná přímou cestou z polymerního roztoku, který obsahoval tři složky:

rozpouštědlo, srážedlo a polymer (PCL). Taktéž byla stanovena vyhovující koncentrace polymerního roztoku na 18 hm.% pro zvláknění PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol. Jako vhodné směsi rozpouštědel pro tvorbu porézních vláken byly potvrzeny THF/DMSO (9/1 obj.) a ethylacetát/DMSO (9/1 obj.). Tyto směsi rozpouštědel splňují všechny podmínky pro vznik porézních vláken. Zástupci rozpouštědel pro PCL (THF a ethylacetát) mají vysokou hodnotu tlaku par nad rozpouštědlem, oproti tomu srážedlo pro PCL (DMSO) má tuto hodnotu nízkou. Další z podmínek je také správný objemový poměr srážedla/rozpouštědla, který pro obě směsi rozpouštědel činí 9/1 obj.

Morfologie připravených porézních nanovláken byla posuzována SEM (Obr. 21), ze kterých je přibližně možné odhadnout tvar a rozměr pórů. Póry na vláknech mají blíže nespecifikovatelný tvar, v některých případech se jedná o tvar blízký se kruhu či elipse. Dle klasifikace pórů podle jejich rozměru je možné je vizuálně zařadit do kategorie makropórů, což jsou póry s rozměrem větším než 50 nm. Pro bližší charakterizaci nanovlákněných vrstev, co se týče měrného povrchu a objemu mikropórů, bylo nutné vrstvy dále analyzovat (více viz. kapitola 2.7).



Obr. 21: SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím různých směsí rozpouštědel: a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.).

## **2.5. Výroba neporézních PCL vláken pomocí elektrostatického zvlákňování**

Úspěchem již provedených experimentů bylo připravení porézních nanovláken, viz kapitola 2.4.. Již vyrobená porézní vlákna bylo nutné zhodnotit a v první řadě zkonstatovat rozdíly a výhody oproti vláknům neporézním, což naznačuje obsah nadcházející kapitoly. Záměrem experimentů, blíže popsanych v této kapitole, bylo vyrobit neporézní PCL nanovlákna, která dále sloužila k porovnání s vlákny porézními.

### **2.5.1. Volba rozpouštědel pro přípravu neporézních PCL nanovláken**

Výběr typů rozpouštědel pro přípravu neporézních nanovláken byl ovlivněn již zmiňovanými diplomovými pracemi [25] a [26]. Bylo přihlíženo k morfologii PCL vrstev, které v těchto pracích byly zdokumentovány SEM snímky.

### **2.5.2. Elektrostatické zvlákňování polymerních roztoků PCL**

Pro elektrostatické zvlákňování bylo postupně namícháno okolo dvaceti pěti roztoků se záměrem připravit neporézní PCL nanovlákna s podobnými průměry vláken jako měla vlákna porézní. Pro přípravu roztoků byl opět používán PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol, pouze v jednom případě byl používán PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 80\,000$  g/mol. Jednotlivé roztoky se od sebe lišily koncentrací a použitou směsí rozpouštědel, viz Tab.4.

K elektrostatickému zvlákňování bylo znovu využito laboratorní zařízení pro zvlákňování z tyčky, popisované v kapitole 2.2.1. Pro všechny roztoky bylo dodržováno stejné nastavení tohoto zařízení: hodnota napětí 30 kV a vzdálenost uzemněného sběrného kolektoru od povrchu nástavce na tyčku 10 cm. Všechny roztoky byly na nástavec tyčky dávkovány přibližně ve stejném množství 2ml. Jako podklad pro usazování vláken opět posloužil černý papír, upevněný na sběrný kolektor.

Tab. 4: Přehled namíchaných roztoků pro elektrostatické zvlákňování PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol.

Směs rozpouštědel	Objemový poměr	Koncentrace roztoku [hm.%]
THF/DMSO	7/3	14
THF/DMSO	7/3	18
ethylacetát/DMSO	7/3	14
ethylacetát/DMSO	7/3	18
ethylacetát/DMA	8/2	18
ethylacetát/DMA	7/3	18
ethylacetát/DMA	7/3	20
ethylacetát/DMA	6/4	16
ethylacetát/DMF	8/2	18
ethylacetát/DMF	7/3	18
ethylacetát/DMF	7/3	20
chloroform/ethanol	9/1	18
chloroform/ethanol	9/1	12
chloroform/ethanol	9/1	14
chloroform/ethanol	9/1	16
DMF	-	18
ethylacetát	-	18
chloroform/methanol	9/1	14
chloroform/methanol	9/1	16
chloroform/methanol	9/1	18
aceton/ethanol	7/3	16
aceton/ethanol	7/3	18
THF/DMF	1/1	16
THF/DMF	1/1	18
aceton	-	18

### 2.5.3. Výsledky elektrostatického zvlákňování polymerních roztoků PCL

V první fázi přípravy neporézních nanovláken z PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol byly namíchány čtyři roztoky. Pro rozpuštění PCL granulátu byly použity dvě směsi rozpouštědel THF/DMSO (7/3 obj.) a ethylacetát/DMSO (7/3 obj.). Vzniklé roztoky dosahovaly koncentrace 14 a 18 hm.%. Předpokladem pro vznik neporézních vláken s využitím stejné směsi rozpouštědel, jako tomu bylo u porézních vláken, byl změněný objemový podíl rozpouštědla/srážedla. Po zvlákňování namíchaných roztoků následovala jejich analýza s využitím SEM, která zmíněný předpoklad vyvrátila. Na snímcích byly patrné póry a to jak na defektech ve vrstvě, tak i na vzniklých vláknech. Při zvlákňování 18 hm.% roztoku PCL, kde bylo jako rozpouštědlo



použito ethylacetát/DMSO (7/3 obj.), dokonce vznikla spíše fólie. Vlákná byla vzájemně spojena, měla plochý tvar a jejich povrch byl výrazně pórovitý. Bylo tedy nutné zvolit jiné směsi rozpouštědel nebo samotná rozpouštědla taková, aby elektrostaticky zvlákněná vlákna nebyla porézní a ani defekty v nanovlákněné vrstvě neměly na povrchu póry.

V dalším kroku bylo namícháno šest roztoků, které měly shodnou koncentraci 18 hm.%. Pro namíchání roztoků byla použita následující rozpouštědla: ethylacetát/DMA (8/2 obj.), ethylacetát/DMA (7/3 obj.), ethylacetát/DMF (8/2 obj.), ethylacetát/DMF (7/3 obj.), chloroform/ethanol (9/1 obj.) a samotné DMF. Polymerní roztok PCL obsahující DMF nemohl být elektrostaticky zvlákněn, jelikož po sejmutí z míchadla, kde byl zahříván na 30°C, téměř okamžitě ztuhl. Zbýlé roztoky byly elektrostaticky zvlákněny. Kromě roztoků obsahujících ethylacetát/DMA (8/2 obj.) a chloroform/ethanol (9/1 obj.), byla u všech zvláknovaných roztoků pozorována vysoká intenzita zvláknování. Vrstvy byly opět zobrazeny pomocí SEM. Snímky nepřinesly povzbuzující výsledky. Elektrostaticky zvlákněné roztoky, kde bylo jako rozpouštědlo použito ethylacetát/DMA (8/2 obj.), ethylacetát/DMA (7/3 obj.), ethylacetát/DMF (8/2 obj.), vykazovaly na SEM snímcích četné defekty, které měly na povrchu póry. Oproti tomu, vrstva vzniklá zvlákněním PCL roztoku obsahujícího ethylacetát/DMF (7/3 obj.), již nevykazovala póry ani na vláknech, ani na četných a rozsáhlých segmentech. Za zdánlivý úspěch můžeme považovat vrstvu vláken, pro jejíž přípravu bylo použito směsi rozpouštědel chloroform/ethanol (9/1 obj.). Jmenovaná vrstva téměř neobsahovala defekty a vlákna neměla na povrchu póry. Roztok ale při zvláknování vykazoval pouze slabou intenzitu zvláknování, což je patrné i na SEM snímcích, a vzniklá vlákna dosahovala průměrů přibližně 2,5  $\mu\text{m}$ .

Ani v nejmenším ideálního, ale jistě slibného výsledku bylo v předchozích pokusech dosaženo se směsí rozpouštědel chloroform/ethanol (9/1 obj.), proto byly s použitím této směsi rozpouštědel namíchány 12, 14 a 16 hm.% roztoky PCL. U všech roztoků bez ohledu na koncentraci byla shledána velice nízká intenzita zvláknování, což potvrdily i SEM snímky.

Jelikož z žádného doposud namíchaného roztoku PCL nebyla elektrostaticky zvlákněna přijatelná vrstva hladkých nanovláken, bylo nezbytné vyzkoušet nové směsi rozpouštědel a samotná rozpouštědla. U některých již použitých směsí (ethylacetát/DMF – 7/3 obj. a ethylacetát/DMA – 7/3 obj.) byla pouze upravena

koncentrace PCL roztoku na 20 hm.%. Nově navrženými rozpouštědly byly: ethylacetát, chloroform/methanol (9/1 obj.), aceton/ethanol (7/3 obj.), THF/DMF (1/1 obj.) a aceton. Koncentrace namíchaných PCL roztoků je možné snadno dohledat v Tab. 4. Pro namíchání roztoku (9 hm.%) obsahující aceton byl využit PCL o molekulové hmotnosti  $M_n = 80\,000$  g/mol. Ze SEM snímků bylo patrné, že nevhodnými rozpouštědly pro vznik neporézních PCL vláken jsou: ethylacetát/DMF (7/3 obj.), ethylacetát/DMA (7/3 obj.), ethylacetát a THF/DMF (1/1 obj.). Vzorky vytvořené elektrostatickým zvlákněním roztoků, obsahujících jmenovaná rozpouštědla, vykazovaly velké množství defektů. V případě 20 hm.% PCL roztoku s použitím ethylacetát/DMA (7/3 obj.) vznikla fólie. Velice pěkných vrstev bylo dosaženo s použitím rozpouštědel aceton/ethanol (7/3 obj.), kdy po zvláknění roztoku s nižší koncentrací (16 hm.%) výsledná vrstva obsahovala jen malé množství defektů. Při použití směsi rozpouštědel chloroform/methanol (9/1 obj.) vznikala hladká vlákna s průměrem až 2,5  $\mu\text{m}$ . Dobrých výsledků bylo také dosaženo při použití PCL s  $M_n = 80\,000$  g/mol, kde bylo pro namíchání roztoku využito acetonu. To bylo hlavním důvodem pro aplikaci acetonu při rozpouštění PCL s  $M_n = 60\,000$  g/mol.

V poslední fázi pokusů o přípravu neporézních PCL nanovláken byly namíchány tři roztoky. U všech těchto roztoků byl používán PCL s  $M_n = 60\,000$  g/mol. V první řadě byl namíchán 18 hm.% roztok PCL s využitím acetonu. Dále pak 14 hm.% roztok PCL, kde jako rozpouštědlo figurovala směs chloroform/methanol (9/1 obj.) a 16 hm.% roztok PCL, obsahující ethylacetát/DMA (6/4 obj.). Po zvláknění těchto roztoků proběhla jejich analýza na SEM, kde se ukázala jako nejlepší získaná vrstva z 18 hm.% roztoku PCL, který obsahoval aceton. Nedostatkem této vrstvy však bylo množství defektů a velké rozdíly mezi průměry vláken. Při použití směsi rozpouštědel chloroform/methanol (9/1 obj.) vznikala vlákna s velkým průměrem vláken (až 4  $\mu\text{m}$ ), která byla navzájem slepená. Směs rozpouštědel ethylacetát/DMA se změněným objemovým poměrem na 6/4 se opět neosvědčila. SEM snímky ukázaly velké množství defektů v elektrostaticky zvlákněné vrstvě.

V Tab. 5 je přehledně zaznamenán průběh zvláknění jednotlivých výše jmenovaných roztoků.

*Tab. 5: Zhodnocení elektrostatického zvlákňování (+++ vysoká intenzita elektrostatického zvlákňování, ++ zvlákňování probíhalo, + zvlákňování téměř neprobíhalo, - roztok nebyl zvlákňován).*

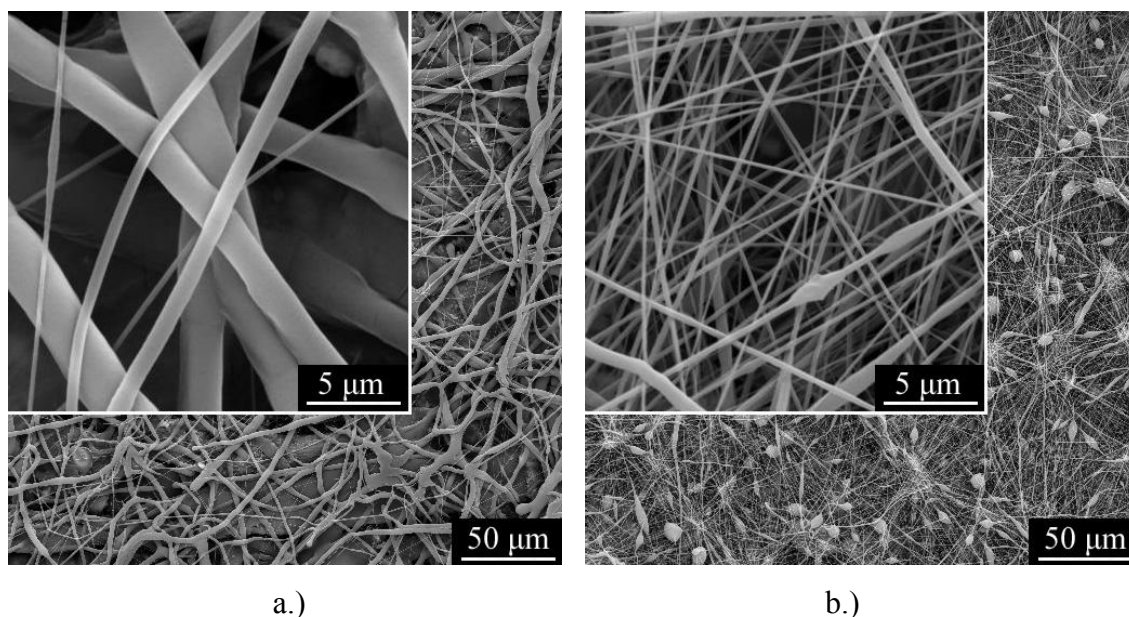
<b>Směs rozpouštědel</b>	<b>Koncentrace roztoku [hm.%]</b>	<b>Průběh elektrostatického zvlákňování</b>
THF/DMSO - 7/3 obj.	14	+
THF/DMSO - 7/3 obj.	18	+
ethylacetát/DMSO - 7/3 obj.	14	++
ethylacetát/DMSO - 7/3 obj.	18	+
ethylacetát/DMA - 8/2 obj.	18	++
ethylacetát/DMA - 7/3 obj.	18	+++
ethylacetát/DMA - 7/3 obj.	20	+
ethylacetát/DMA - 6/4 obj.	16	+++
ethylacetát/DMF - 8/2 obj.	18	+++
ethylacetát/DMF - 7/3 obj.	18	+++
ethylacetát/DMF - 7/3 obj.	20	++
chloroform/ethanol - 9/1 obj.	18	+
chloroform/ethanol - 9/1 obj.	12	+
chloroform/ethanol - 9/1 obj.	14	+
chloroform/ethanol - 9/1 obj.	16	+
DMF	18	-
ethylacetát	18	+
chloroform/methanol - 9/1 obj.	14	+
chloroform/methanol - 9/1 obj.	16	+
chloroform/methanol - 9/1 obj.	18	+
aceton/ethanol - 7/3 obj.	16	+++
aceton/ethanol - 7/3 obj.	18	+++
THF/DMF - 1/1 obj.	16	++
THF/DMF - 1/1 obj.	18	++
aceton	18	+++

#### 2.5.4. Závěr k elektrostatickému zvlákňování polymerních roztoků PCL

Byla provedena řada experimentů se záměrem připravit hladká, neporézní PCL nanovlákná, která svými průměry měla přibližně odpovídat připraveným PCL porézním nanovláknům. Jelikož bylo velice obtížné najít vhodné rozpouštědlo pro přípravu vrstvy PCL nanovláken, která nebude obsahovat velké množství defektů, bylo od tohoto záměru upuštěno. Pro porovnání měrných povrchů porézních a neporézních PCL nanovláken muselo být navrženo nové řešení. Pro pozdější vytvoření vrstvy na podkladovou textilií a hlubší analýzu vzorků byly vybrány roztoky, kde bylo k jejich namíchání užito těchto směsí rozpouštědel: chloroform/methanol (9/1 obj.)

a aceton/ethanol (7/3 obj.). V obou jmenovaných případech se jednalo o roztoky s 16 hm% koncentrací. Důvodem výběru právě těchto dvou směsí rozpouštědel je, že v obou případech vznikala při elektrostatickém zvlákňování hladká vlákna. Naopak odlišnost těchto vrstev tkví v průměrech vláken. Průměry vláken v jednotlivých vrstvách se od sebe liší řádově až o několik stovek nanometrů. Jedná se tudíž o extrémně silná vlákna v případě použití směsi rozpouštědel chloroform/methanol (9/1 obj.) a naopak velice jemná vlákna v případě užití směsi aceton/ethanol (7/3 obj.) viz Obr. 22.

V úplném závěru je možné konstatovat, že se podařilo vyrobit hladká PCL nanovlákna, která bude možné analyzovat a výsledky těchto analýz bude možné následně v určitém smyslu porovnávat s výsledky testů, provedených na PCL nanovlákných vrstvách s porézními vlákny.



Obr. 22: SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 16 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím různých směsí rozpouštědel: a.) chloroform/methanol (9/1 obj.), b.) aceton/ethanol (7/3 obj.).

## 2.6. Vliv teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování PCL

Ve studii [15], jejíž obsah je přiblížen v kapitole 1.4.1., byl zkoumán vliv teploty kolektoru na porézní strukturu elektrostaticky zvláknovaných vláken. Ze získaných výsledků této studie vyplývá, že velký vliv na morfologii elektrostaticky zvláknovaných

vláken má teplota varu rozpouštědla, použitého na přípravu polymerního roztoku, i teplota zesklenní polymeru. Teplota zesklenní je uváděna jako teplota mezní pro zahřívání sběrného kolektoru. Nad touto teplotou dochází ke zhroucení porézní struktury vláken, ukládajících se na zahřívání kolektor.

Překážkou, stojící v cestě provedení experimentu za podmínek totožných, jaké jsou popisovány ve studii [15], byla právě skloňovaná teplota zesklenní. Pro PCL tato teplota činí  $-60^{\circ}\text{C}$ , oproti tomu teplota varu rozpouštědel je až o  $100^{\circ}\text{C}$  vyšší, což pro tento experiment znamenalo zkusit ovlivnit morfologii porézních vláken pouhým zahříváním kolektoru s přihlédnutím na teploty varu využitých rozpouštědel a teplotu tání PCL  $60^{\circ}\text{C}$ .

### 2.6.1. Volba rozpouštědel pro zkoumání vlivu teploty kolektoru na elektrostatické zvlákňování PCL

Jak již bylo zmíněno výše, díky záporné teplotě zesklenní PCL nemohlo dojít k zopakování experimentu, který byl popisován ve studii [15]. Určitou výzvou bylo ale zjistit, jaký vliv má teplota kolektoru na morfologii porézních vláken a na samotný průběh zvlákňování. Proto byly zvoleny směsi rozpouštědel a koncentrace roztoků takové, u nichž již dříve bylo zjištěno, že z nich lze elektrostatickým zvlákňováním získat porézní nanovlákná. Použité směsi rozpouštědel a hmotnostní koncentrace roztoků PCL, které byly v rámci tohoto experimentu namíchány, jsou shrnuty v Tab.6. Je dobré také připomenout teploty varu používaných rozpouštědel: THF má teplotu varu  $66^{\circ}\text{C}$ , DMSO  $189^{\circ}\text{C}$  a ethylacetát  $77,1^{\circ}\text{C}$ . Teploty varu rozpouštědel a teplota tání PCL byly brány v úvahu při volbě nejvyšší nastavované teploty kolektoru ( $60^{\circ}\text{C}$ ).

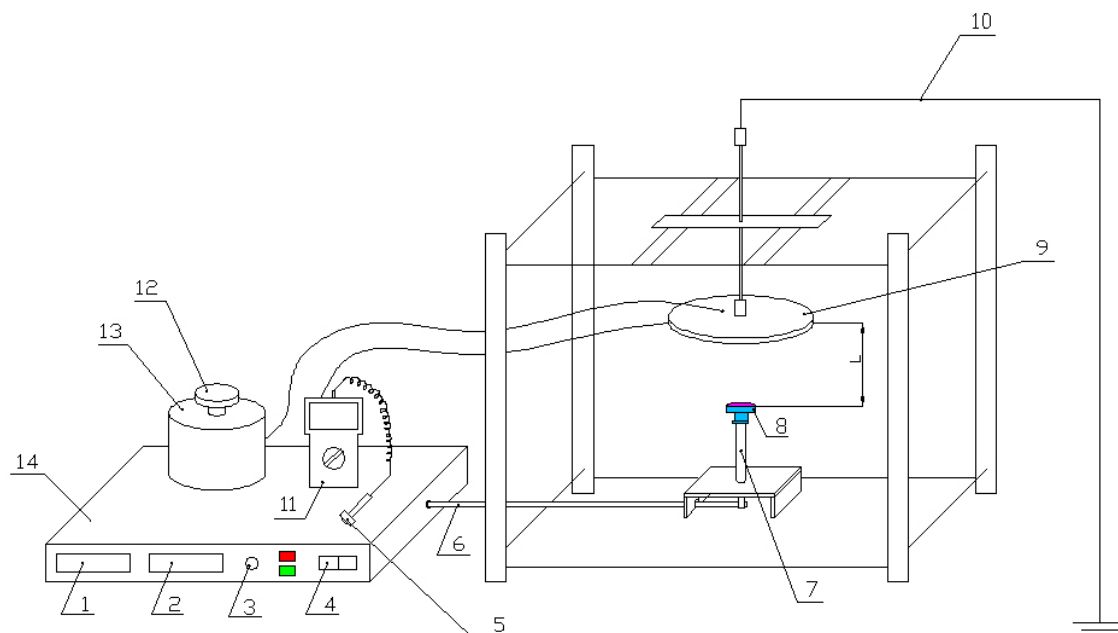
Tab. 6: Souhrn směsí rozpouštědel používaných pro elektrostatické zvlákňování PCL ( $M_n = 60\,000\text{ g/mol}$ ) při zjišťování vlivu teploty kolektoru na morfologii vláken.

Směs rozpouštědel	Objemový poměr	Koncentrace roztoku [hm.%]
THF/DMSO	9/1	18
ethylacetát/DMSO	9/1	18

### **2.6.2. Elektrostatické zvlákňování PCL se změnou teploty sběrného kolektoru**

Pro elektrostatické zvlákňování se změnou teploty kolektoru byly namíchány dva polymerní roztoky. K namíchání roztoků byl využit PCL s molekulovou hmotností  $M_n = 60\,000$  g/mol.

Experiment byl prováděn na laboratorním zařízení pro zvlákňování z tyčky, které je blíže charakterizováno v kapitole 2.2.1.. Aby bylo možné kolektor zahřívat a zároveň měřit teplotu kolektoru, muselo dojít k modifikaci tohoto zařízení (Obr. 23). Změn oproti klasickému uspořádání je hned několik. V první řadě bylo nutné nahradit klasický sběrný kolektor kolektorem vyhřívaným, v podobě ploténky. Podstatné pro samotný proces elektrostatického zvlákňování bylo zajistit vodivost kolektoru. Tento problém byl vyřešen obalením ploténky hliníkovou folií. Vyhřívání kolektoru bylo zaopatřeno pomocí autotransformátoru, který na základě regulace odporu korigoval teplotu kolektoru. K měření teploty byl používán True RMS Supermeter HHM 290 značky OMEGA. Supermeter snímal dvě teploty. Teplotu uvnitř ploténky, která byla snímána plynule po celou dobu zvlákňování (zobrazena ve spodní části displeje). Druhá z teplot byla měřena dotykově přímo na ploše kolektoru v době před začátkem každého zvlákňování (zobrazena v horní části displeje).



Obr. 23: Schéma modifikovaného laboratorního zařízení pro zvlákňování z tyčky:

1 - displej pro zobrazení proudu, 2 - displej pro zobrazení nastaveného napětí, 3 - regulace napětí, 4 - zapnutí a vypnutí zdroje vysokého napětí, 5 – dotyková sonda pro měření teploty, 6 - přívod vysokého napětí k tyčce, 7 – tyčka, 8 – nástavec na tyčku s nadávkovaným polymerním roztokem, L – vzdálenost sběrného kolektoru od nástavce na tyčku, 9 – vyhřívaný sběrný kolektor (ploténka), 10 – uzemnění kolektoru, 11 - Supermeter, 12 – regulace teploty ploténky, 13 – autotransformátor, 14 - zdroj vysokého napětí.

Dávkování polymerního roztoku probíhalo totožně jako v předešlých experimentech. Vznikající PCL nanovlákná se usazovala na černý podkladový papír. Rozdíl oproti předešlým experimentům byl v tom, že na podkladový papír byly nazvlákňovány vždy dvě dávky polymerního roztoku. Základní parametry, jako vzdálenost sběrného kolektoru od nástavce na tyčku 10 cm a hodnota vysokého napětí 30kV, zůstaly stejné. Parametrem, který se v tomto experimentu měnil, byla teplota kolektoru. První zvlákňování výše upřesněných roztoků proběhlo bez zahřívání kolektoru, při teplotě 18°C. Před následujícím zvlákňováním se kolektor ohřál na teplotu 30°C. Každé další zvlákňování probíhalo s teplotou kolektoru o 10°C vyšší. Jako poslední byla nastavena teplota 60°C, což je teplota tání PCL.

Jistou nevýhodou tohoto experimentu byla nemožnost zabránit ohřívání okolního vzduchu od vyhřívání kolektoru. Zvyšující se teplota vzduchu v okolí zařízení pro elektrostatické zvlákňování měla negativní vliv na intenzitu zvlákňování. S rostoucí teplotou kolektoru a potažmo s rostoucí teplotou ovzduší byl vizuálně zpozorován pokles intenzity. Klesající intenzitu zvlákňování bylo možné zhodnotit také z vyrobených vrstev na podkladovém papíru. Během elektrostatického zvlákňování se některá vlákna neusazovala na kolektor, ale odlétávala k vodivým místům nosné konstrukce pro vyhřívání kolektoru. Zhodnocení průběhu zvlákňování všech PCL roztoků v závislosti na teplotě kolektoru je shrnuto v Tab. 7 a Tab. 8. Všechny připravené vzorky byly podrobeny analýze pomocí SEM.

*Tab. 7: Zhodnocení elektrostatického zvlákňování 18 hm.% roztoku PCL při použití směsi rozpouštědel THF/DMSO (9/1 obj.) (+++ vysoká intenzita elektrostatického zvlákňování, ++ zvlákňování probíhalo, + zvlákňování téměř neprobíhalo).*

Teplota kolektoru [°C]	Průběh elektrostatického zvlákňování
18	+++
30	+++
40	++
50	+
60	+

*Tab. 8: Zhodnocení elektrostatického zvlákňování 18 hm.% roztoku PCL při použití směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.) (+++ vysoká intenzita elektrostatického zvlákňování, ++ zvlákňování probíhalo, + zvlákňování téměř neprobíhalo).*

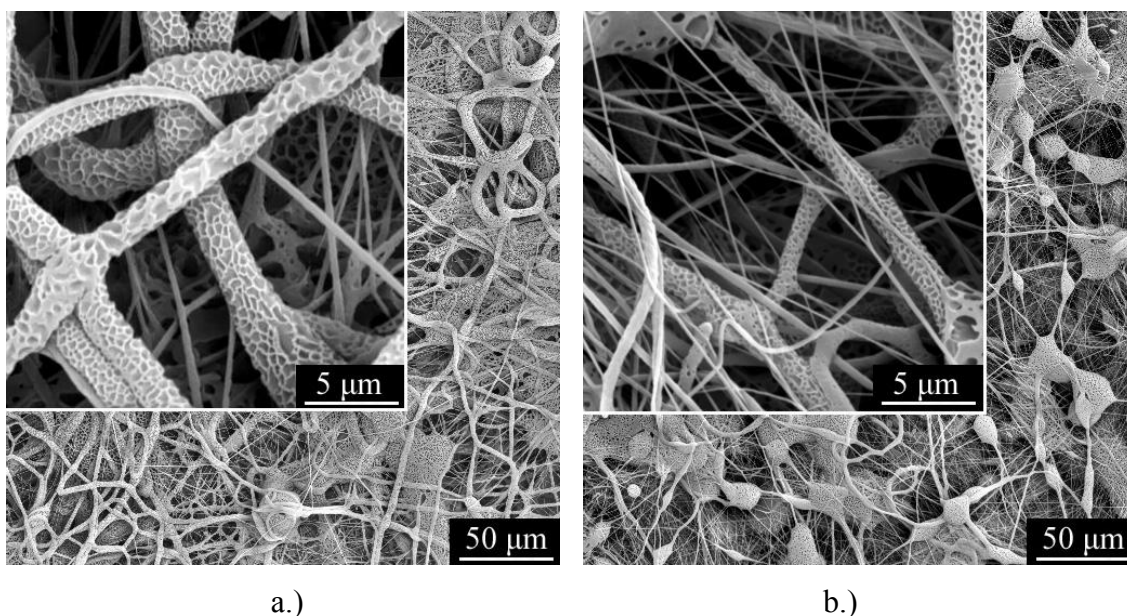
Teplota kolektoru [°C]	Průběh elektrostatického zvlákňování
18	+++
30	++
40	++
50	+
60	+



### 2.6.3. Závěr k elektrostatickému zvlákňování PCL se změnou teploty sběrného kolektoru

Ze SEM snímků je možné zhodnotit přínos použití vyhřívaného kolektoru na morfologii porézních vláken. U obou zvlákňovaných 18 hm.% PCL roztoků s obsahem THF/DMSO (9/1 obj.) nebo ethylacetát/DMSO (9/1 obj.) bylo dosaženo téměř totožných výsledků. Již při počáteční teplotě kolektoru 18°C bylo ze SEM snímků patrné (Obr.24), že součástí vrstvy bylo mnoho rozsáhlých defektů s pórovitou strukturou a vlákna vykazovala výrazné rozdíly, co se týče průměrů (stovky nanometrů až jednotky mikrometrů). Vláknenné vrstvy, zvlákňované při teplotě kolektoru 30°C, se liší od vrstev vzniklých při teplotě kolektoru 18°C jen velice málo (Obr.25), mají však viditelně větší počet defektů. Při teplotě 40°C docházelo k vzájemnému slepování vláken (Obr.26). Ještě více je tento trend patrný při teplotě 50°C (Obr.27). Teplota kolektoru 60°C přispěla k vytvoření téměř celistvé fólie s viditelnou porézní strukturou na povrchu (Obr.28).

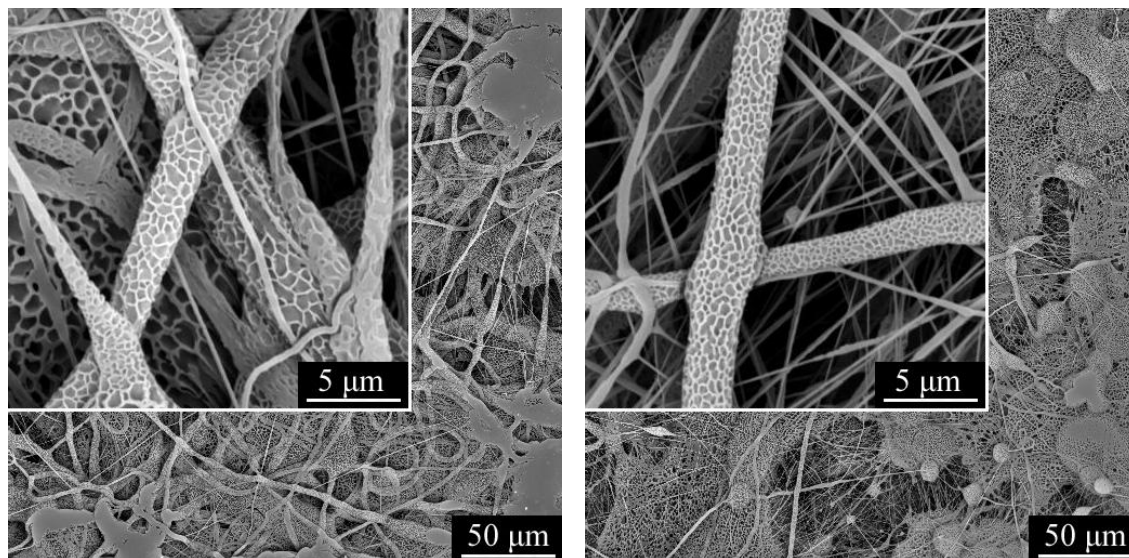
Výsledky analýzy vzorků pomocí SEM ukázaly, že pro zvlákňování roztoků PCL, obsahujících vybrané směsi rozpouštědel (THF/DMSO - 9/1 obj. a ethylacetát/DMSO - 9/1 obj.), není vhodné zahřívat kolektor. Nelze však vyloučit, že při použití jiného polymerního roztoku by byl přínos ohřívání kolektoru pozitivní.



Obr. 24: SEM snímky elektrostaticky zvlákňovaných 18 hm.% roztoků PCL

( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel:

a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.); teplota kolektoru 18°C.



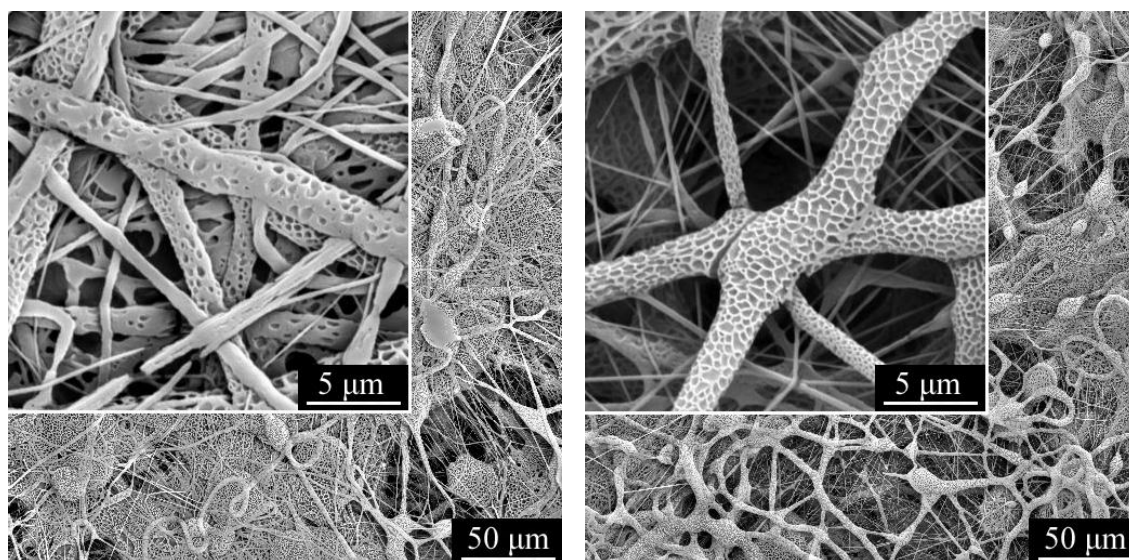
a.)

b.)

Obr. 25: SEM snímky elektrostatičticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL

( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel:

a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.); teplota kolektoru 30°C.



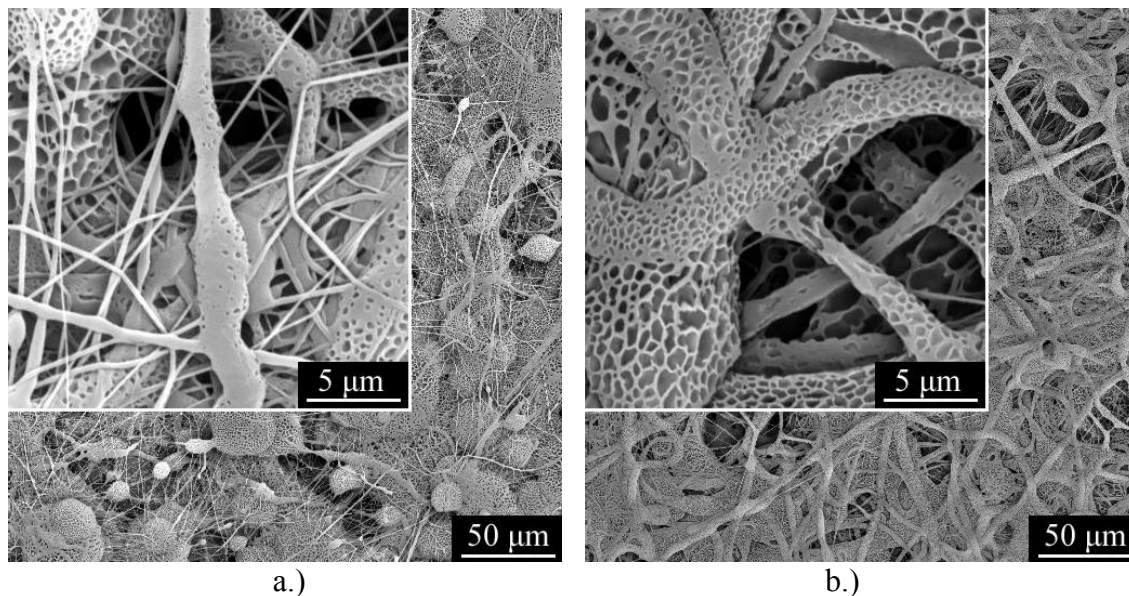
a.)

b.)

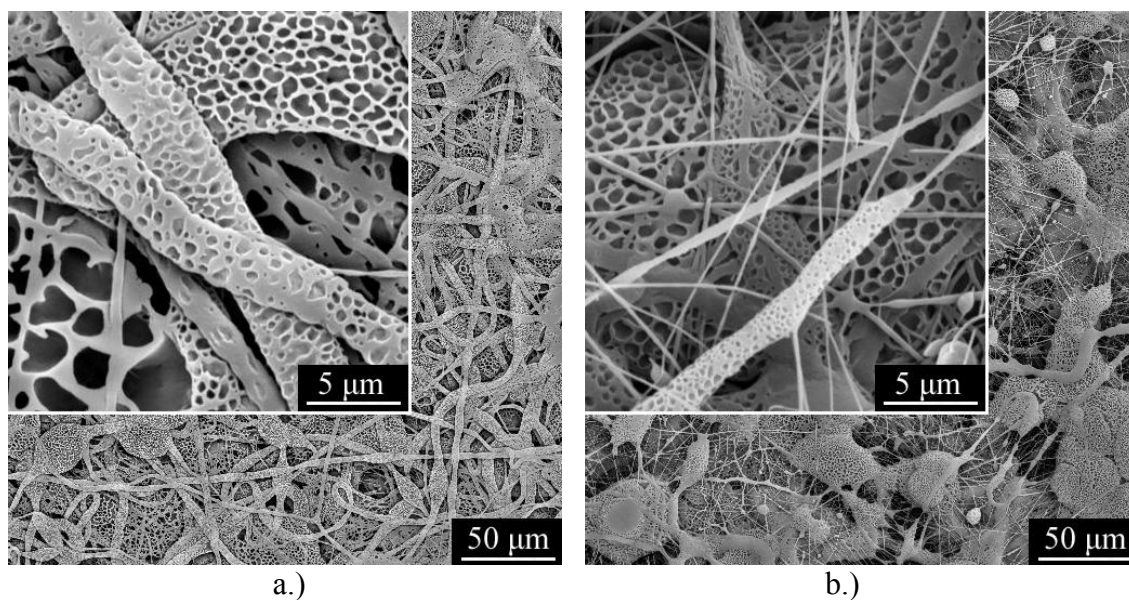
Obr. 26: SEM snímky elektrostatičticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL

( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel:

a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.); teplota kolektoru 40°C.



Obr. 27: SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel:  
a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.); teplota kolektoru 50°C.



Obr. 28: SEM snímky elektrostaticky zvlákněných 18 hm.% roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím následujících směsí rozpouštědel:  
a.) THF/DMSO (9/1 obj.), b.) ethylacetát/DMSO (9/1 obj.); teplota kolektoru 60°C.

## 2.7. Analýza vrstev s porézními a neporézními vlákny

Závěry kapitol 2.4. a 2.5. hovoří o jistých úspěších při výrobě porézních a posléze i neporézních PCL nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování a zároveň vyzdvihují některé roztoky PCL jako vhodné pro výrobu nanovlákených vrstev. Záměrem následujících experimentů bylo vyrobit nanovlákené vrstvy s porézními a hladkými vlákny, které později poslouží k jejich bližší charakterizaci. Hledisek, podle kterých by mohly být vrstvy porézních a neporézních nanovláken porovnávány, se nabízí jistě mnoho. Jedním z nich je měrný povrch vláken. A právě měrný povrch porézních versus neporézních nanovláken je tématem této kapitoly.

### 2.7.1. Výroba vrstev s porézními a neporézními vlákny

Na základě předchozích experimentů byly vybrány čtyři PCL roztoky pro výrobu nanovlákených vrstev. Pro namíchání roztoků byly využity následující směsi rozpouštědel: THF/DMSO (9/1 obj.), ethylacetát/DMSO (9/1 obj.), chloroform/methanol (9/1 obj.) a aceton/ethanol (7/3 obj.). Koncentrace roztoků a číselné označení vyrobených vrstev je naznačeno v Tab. 9.

Prvotní snahou při výrobě nanovlákených vrstev bylo využít pro elektrostatické zvlákňování laboratorní zařízení pro zvlákňování z válečku. Na tomto zařízení byla nastavena vzdálenost kolektoru od válečku 10 cm a napětí 30 kV. Jako první byl ke zvlákňování použit roztok PCL s obsahem směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.). Za daných podmínek však zvlákňování neprobíhalo, z tohoto důvodu následovalo zvýšení působícího napětí na 40 kV. Při tomto napětí probíhalo zvlákňování pouze z okrajů válečku, proto bylo od používání laboratorního zařízení pro zvlákňování z válečku ustoupeno.

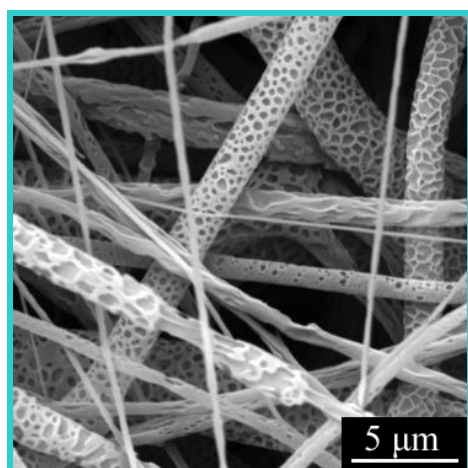
K výrobě nanovlákených PCL vrstev bylo stejně jako v předešlých případech využito laboratorní zařízení pro zvlákňování z tyčky. Nastavení i v tomto případě zůstalo konstantní - vzdálenost kolektoru od tyčky 10 cm a napětí 30 kV. Před zvlákňováním byla na sběrný kolektor umístěována textilie, která sloužila jako podklad pro tvorbu nanovlákené vrstvy. Jednalo se o textilií typu spunbond z hydrofilizovaného PP.

Pro větší přehlednost a snazší orientaci jsou v této kapitole znovu umístěny SEM snímky nanovlákených vrstev (Obr. 29), které byly vybrány pro bližší charakterizaci.

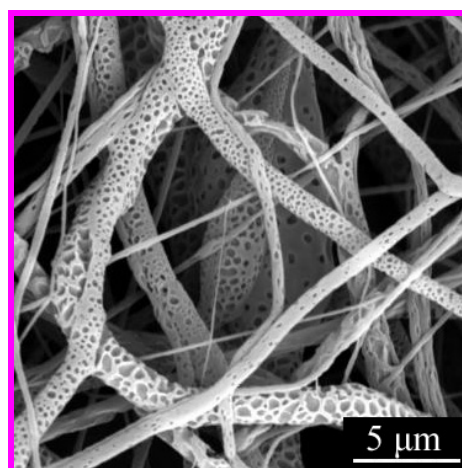
Každý ze snímků je ohraničen jinou barvou. V následném vyhodnocení jsou výsledky pro danou vrstvu označeny vždy barvou, použitou u daného snímku.

*Tab. 9: Přehled namíchaných PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) roztoků pro výrobu nanovláknenných vrstev pomocí elektrostatického zvlákňování.*

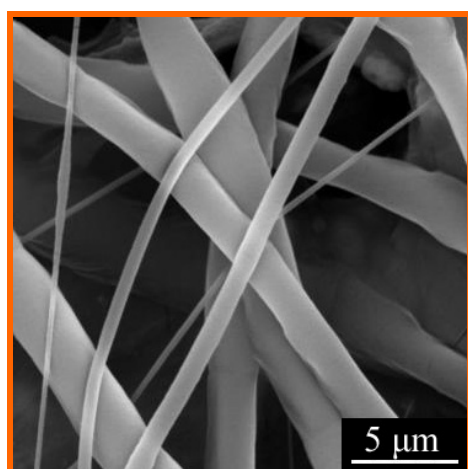
Směs rozpouštědel	Koncentrace roztoku [hm. %]	Označení vrstvy
THF/DMSO (9/1 obj.)	18	Vrstva č.1
ethylacetát/DMSO (9/1 obj.)	18	Vrstva č.2
chloroform/methanol (9/1 obj.)	16	Vrstva č.3
aceton/ethanol (7/3 obj.)	16	Vrstva č.4



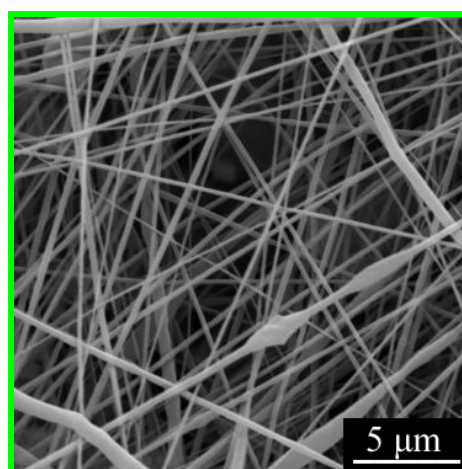
a.)



b.)



c.)



d.)

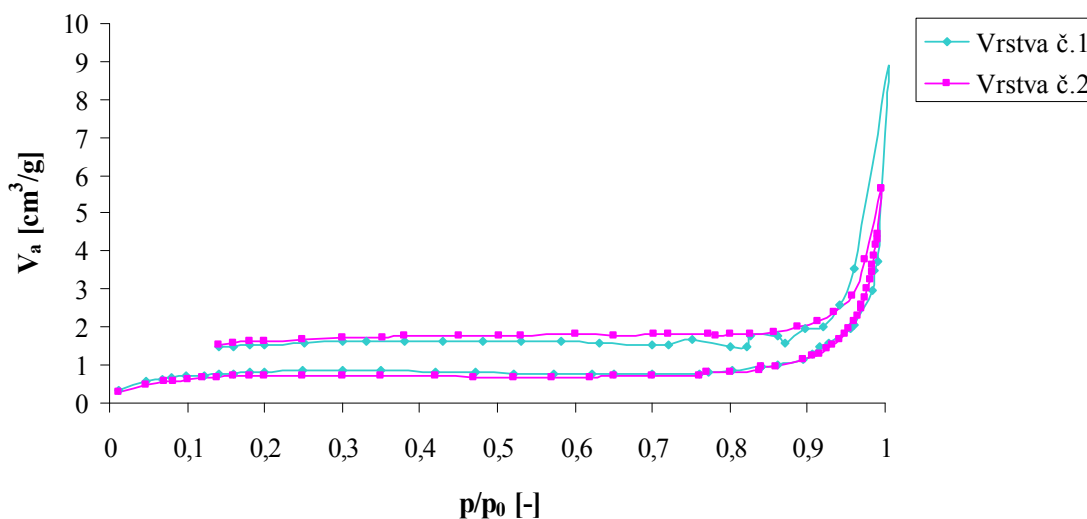
*Obr. 29: SEM snímky nanovláknenných vrstev vybraných pro charakterizaci měrného povrchu: a.) vrstva č.1, b.) vrstva č.2, c.) vrstva č.3, d.) vrstva č.4.*



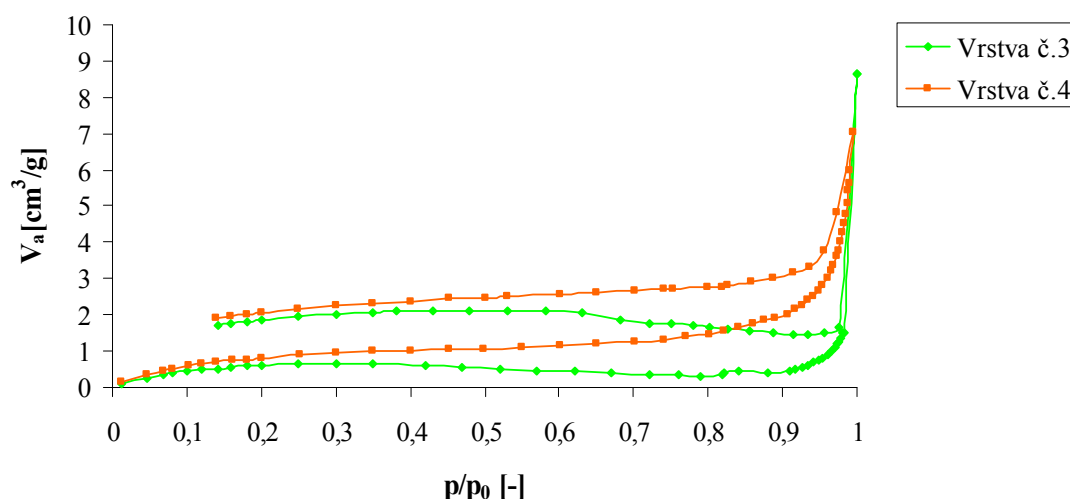
### 2.7.2. Výsledky analýzy připravených nanovláknenných vrstev

Všechny připravené vrstvy (č.1, 2, 3 a 4) byly podrobeny analýze na přístroji ASAP 2020, který je přiblížen v kapitole 2.2.3. Aby bylo možné změřit adsorpční izotermu, bylo nutné vzorky nejprve odplynit pomocí vakuové pumpy. Odplynění bylo prováděno při teplotě 40 °C, po dobu 2620 minut. Pro měření adsorpční isotermy byl jako vhodný adsorbát zvolen dusík. Sledování adsorpční isotermy dusíku standardně probíhá při 77 K (-195,8 °C), což je bod varu dusíku. Doba měření se pohybovala okolo 480 až 600 min.

Grafy 1 a 2 ukazují isotermy dusíku, neboli funkční závislosti adsorbovaného množství dusíku na relativním tlaku dusíku. Z průběhu isotermy pro vrstvu č.4 je patrné, že docházelo k větší adsorpci dusíku ve srovnání s ostatními vrstvami, z čehož je možné usuzovat na větší měrný povrch této vrstvy. Isothermy pro vrstvy č.1, č.2 a č.3 mají přibližně shodný průběh adsorpční větve isotermy, z čehož je možné vyvodit závěr o blízkých hodnotách měrných povrchů těchto vrstev. V Tab. 10 jsou shrnuty výsledky analýz měřených vzorků: měrný povrch podle BET a objem mikropórů podle t-Plot.



Graf 1: Adsorpční isoterma dusíku pro vrstvy č.1 a č.2.

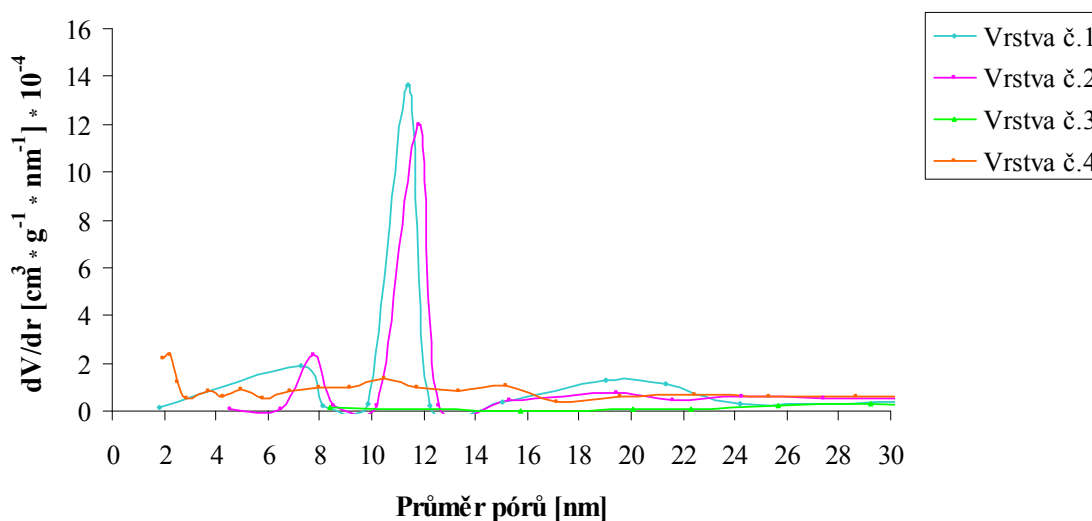


Graf 2: Adsorpční isoterma dusíku pro vrstvy č.3 a č.4.

Tab. 10: Tabulka výsledků analýzy na přístroji ASAP 2020.

	Vrstva č.1	Vrstva č.2	Vrstva č.3	Vrstva č.4
Měrný povrch podle BET [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	3,1	2,6	2,6	3,7
Objem mikropórů podle t-Plot [ $\text{cm}^3/\text{g}$ ]	$1,3 \cdot 10^{-4}$	$2,9 \cdot 10^{-4}$	-	-

Kromě měrného povrchu a objemu mikropórů byla z dat naměřených přístrojem ASAP 2020 vyhodnocována také distribuce pórů pro jednotlivé vrstvy. Ke stanovení distribucí pórů byla využita metoda BJH. Distribuce pórů pro všechny analyzované vrstvy je znázorněna v Grafu 3. Distribuční křivka pro vrstvu č.1 vykazuje pík, který udává, že ve vrstvě je největší objem pórů s průměrem 11 nm. Distribuční křivka pro vrstvu č.2 má velice podobný průběh jako distribuční křivka pro vrstvu č.1. Největší objem pórů zaujímají ve vrstvě č.2 póry o průměru 12 nm. Obě zmiňované vrstvy obsahují také určitý objem mikropórů. Distribuční křivky pro vrstvy č.3 a č.4 nevykazují píky. Křivka pro vrstvu č.3 svým průběhem téměř kopíruje osu x. Na rozdíl od vrstev č.1 a č.2, vrstvy č.3 a č.4 neobsahují mikropóry.



Graf 3: Srovnání jednotlivých distribucí pórů pro vrstvy č.1, č.2, č.3 a č.4.

### 2.7.3. Výpočet měrného povrchu připravených nanovláknenných PCL vrstev

Výsledky měření na přístroji ASAP 2020 nepotvrdily předpoklad většího měrného povrchu porézních vláken oproti vláknům neporézním. Pro kontrolu těchto výsledků byl pouze orientačně vypočten měrný povrch všech čtyř vrstev. K výpočtu byla použita rovnice (1) [27]. Aby mohlo být této rovnice využito, bylo zavedeno několik zjednodušujících předpokladů. Byl předpokládán kruhový průřez vlákna, což pro výpočet znamená, že tvarový faktor průřezu vlákna  $q$  je roven nule. Další podmínkou pro použití rovnice (1) bylo zanedbání pórů na povrchu vláken u vrstev č.1 a č.2. Zmiňované podmínky muselo být uzpůsobeno měření průměru vláken pomocí softwaru pro obrazovou analýzu Lucia G (viz. kap. 2.2.2.). Průměr vláken byl měřen tak, jako by na povrchu vláken póry nebyly.

$$a = \frac{4 \cdot (1 + q)}{\rho \cdot d} \quad (1)$$

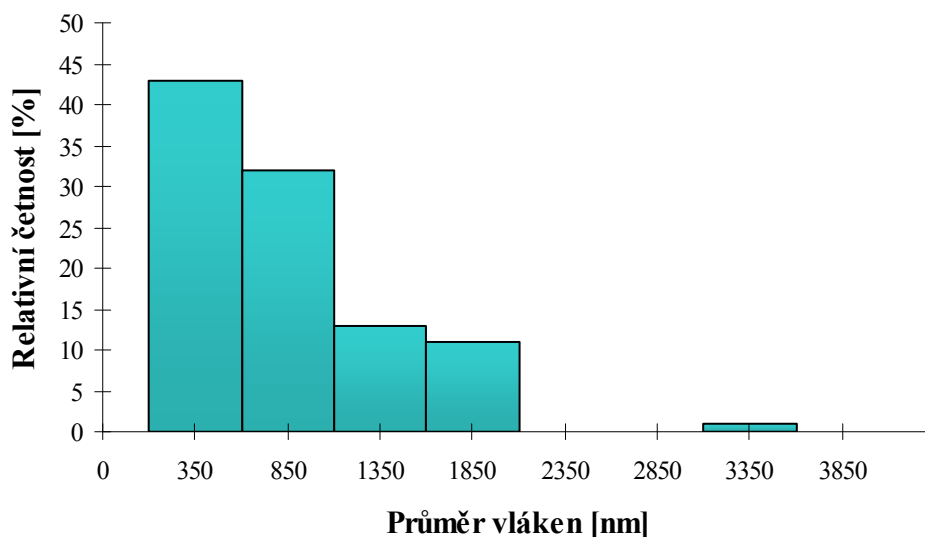
K měření průměru vláken bylo využito SEM snímků a již zmiňovaného softwaru Lucia G. U každé ze čtyř vrstev byl pomocí obrazové analýzy změřen průměr vláken



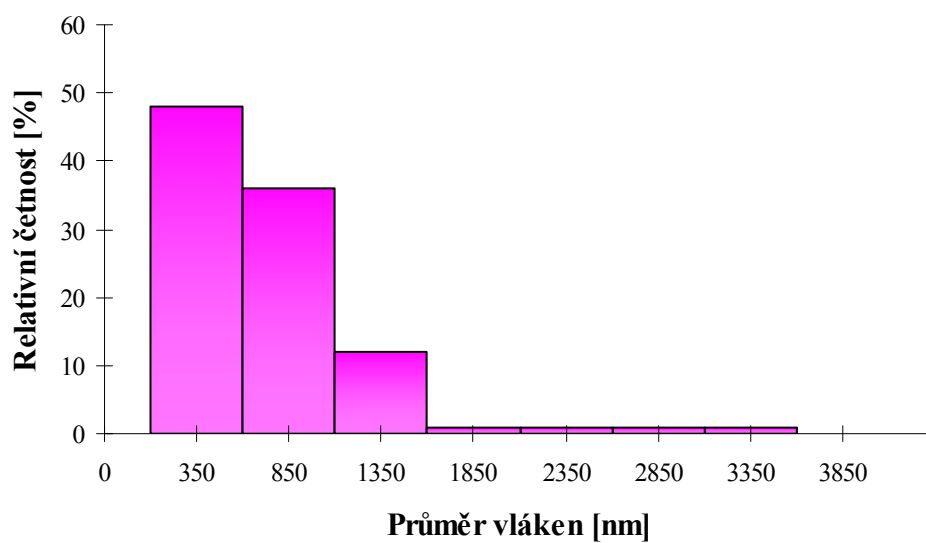
pro sto různých vláken. Z naměřených dat byla spočtena střední hodnota průměru vláken, která byla dosazována do rovnice (1) jako  $d$  [m]. Další pro výpočet potřebnou veličinou byla hustota PCL ( $\rho_{PCL} = 1,146 \cdot 10^6 \text{ g/m}^3$ ). V Tab. 11 jsou shrnuty střední hodnoty průměru vláken a vypočtené měrné povrchy vláken  $a$  [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]. Dále pak grafy 4 až 7 ukazují četnostní histogramy, ze kterých je patrná relativní četnost výskytu vláken s průměrem spadajícím do vymezeného rozsahu třídy. Žádný z histogramů nevykazuje normované normální rozdělení, což je důvod, proč vypočtené měrné povrchy vláken slouží pouze jako přibližné údaje.

Tab. 11: Souhrn vypočtených středních hodnot pro průměr vláken a měrných povrchů.

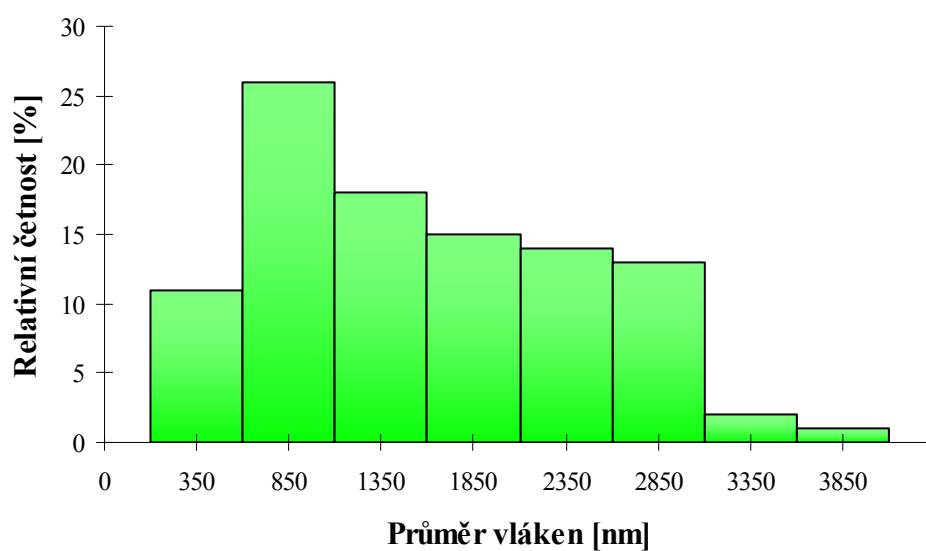
	Vrstva č.1	Vrstva č.2	Vrstva č.3	Vrstva č.4
Střední hodnota průměru vláken $d$ [m]	$830 \cdot 10^{-9}$	$740 \cdot 10^{-9}$	$1580 \cdot 10^{-9}$	$290 \cdot 10^{-9}$
Měrný povrch vláken $a$ [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	4,2	4,7	2,2	12,0



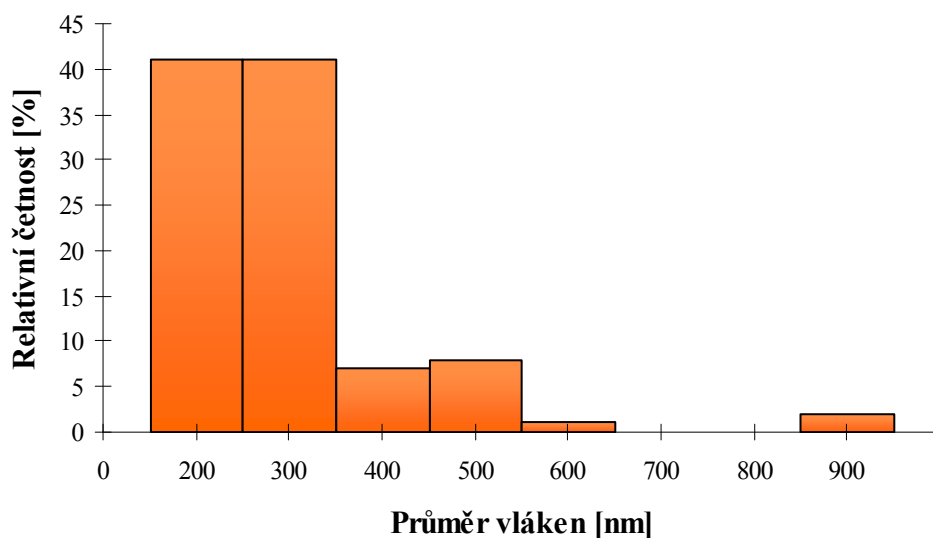
Graf 4: Histogram četností průměrů vláken pro vrstvu č.1.



Graf 5: Histogram četností průměrů vláken pro vrstvu č.2.



Graf 6: Histogram četností průměrů vláken pro vrstvu č.3.



Graf 7: Histogram četností průměrů vláken pro vrstvu č.4.

#### 2.7.4. Závěr k analýze vrstev s porézními a neporézními vlákny

Výsledky analýzy nanovláknenných vrstev na zařízení ASAP 2020 nepotvrdily předpoklad, že porézní vlákna mají větší měrný povrch než vlákna hladká. Z tohoto důvodu byl pouze orientačně spočten měrný povrch vláken dle rovnice (1). Vypočtené hodnoty měrného povrchu nanovláknenných vrstev zanedbávají póry na vláknech u vrstvy č.1 a č.2, i přesto vyšel měrný povrch vyšší než naměřený. Tato skutečnost vedla k zamyšlení se nad vypovídací hodnotou dat naměřených na přístroji ASAP 2020. Jistou překážkou pro zjišťování měrného povrchu nanovláknenných vrstev metodou BET byly zřejmě póry o průměru okolo 200 nm (průměr pórů byl změřen pomocí softwaru Lucia G). Z tohoto důvodu byla na vrstvy aplikována metoda rtuťové porozimetrie. Při měření zmíněnou metodou docházelo k přílišnému stlačení vláken, jehož následkem byl nesprávný průběh tlakové křivky.

Je nutné konstatovat, že hodnoty měrných povrchů stanovené metodou BET nevyšly podle očekávání. Měrné povrchy vrstev s porézními a neporézními vlákny se od sebe výrazně nelišily. I přesto měření na přístroji ASAP 2020 prokázalo, že vrstvy se od sebe v jistém ohledu odlišují. U vrstev s porézními vlákny (č.1 a 2) byl metodou t-Plot

stanoven určitý objem mikropórů, kdežto u vrstev s neporézními vlákny (č.3 a 4) nedošlo k naměření objemu mikropórů.

U vrstev s porézními vlákny bylo prokázáno výpočtem měrného povrchu dle rovnice (1), že metoda BET nezohledňuje póry na povrchu vláken. Zajímavé je také srovnání naměřených a vypočtených měrných povrchů u vrstvy s hladkými vlákny. Pro vrstvu č.3 byl metodou BET stanoven měrný povrch na  $2,6 \text{ m}^2/\text{g}$  a pro vrstvu č.4 na  $3,7 \text{ m}^2/\text{g}$ , v porovnání s vypočteným měrným povrchem (vrstva č.3 -  $2,2 \text{ m}^2/\text{g}$  a vrstva č.4 -  $12,0 \text{ m}^2/\text{g}$ ) se jedná o výrazně odlišné hodnoty. Markantní rozdíly v hodnotách naměřených a vypočtených měrných povrchů u hladkých vláken poukazují na nevhodnost klasifikace nanovláknenných vrstev pomocí metody BET.

Z výše popisovaných skutečností je možné usoudit, že metoda BET není zcela vhodnou metodou pro posuzování rozdílů měrných povrchů porézních vláken oproti vláknům hladkým. Proto nelze zavrhnout ani předpoklad, že vrstvy s porézními vlákny mají ve skutečnosti, bez ohledu na naměřené hodnoty, vyšší měrný povrch než vrstvy s vlákny hladkými. Pozitivním výsledkem je naměření určitého objemu mikropórů ve vrstvách s porézními vlákny, z čehož lze vyvodit, že vrstvy jsou odlišné oproti vrstvám s hladkými vlákny, pouze metoda BET nebyla správně zvolena pro jejich vyhodnocení. Zdánlivě lepší alternativou by byla metoda rtuťové porozimetrie, kterou ale není možné aplikovat na nanovláknenné vrstvy z důvodů užívání příliš vysokého tlaku.

## **2.8. Závislost proliferace buněk na morfologii PCL nanovláknenných vrstev**

Analýza měrného povrchu PCL nanovláknenných vrstev s porézními a hladkými vlákny pomocí metody BET ukázala, že metoda BET není zcela vhodná pro testování nanovláknenných materiálů. I přes tento neúspěch bylo otázkou, zda změna morfologie PCL vláken může nějakým způsobem ovlivnit proliferaci buněk. Tento úkol byl v rámci diplomové práce řešen ve spolupráci s 2. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy, konkrétně Ústavem neurověd, v rámci projektu GAČR.

### 2.8.1. Volba PCL nanovláknenných vrstev pro testování proliferace buněk

Pro testování proliferace buněk na PCL nanovláknenných vrstvách byly záměrně zvoleny vrstvy, které se od sebe vzájemně lišily morfologií (dvě vrstvy obsahující porézní vlákna a jedna vrstva z vláken hladkých). Značení vybraných vrstev odpovídá označení v kapitole 2.7 a je shrnuto v Tab. 12.

*Tab. 12: Přehled elektrostaticky zvlákněných PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) roztoků za účelem přípravy vrstev pro testování proliferace buněk.*

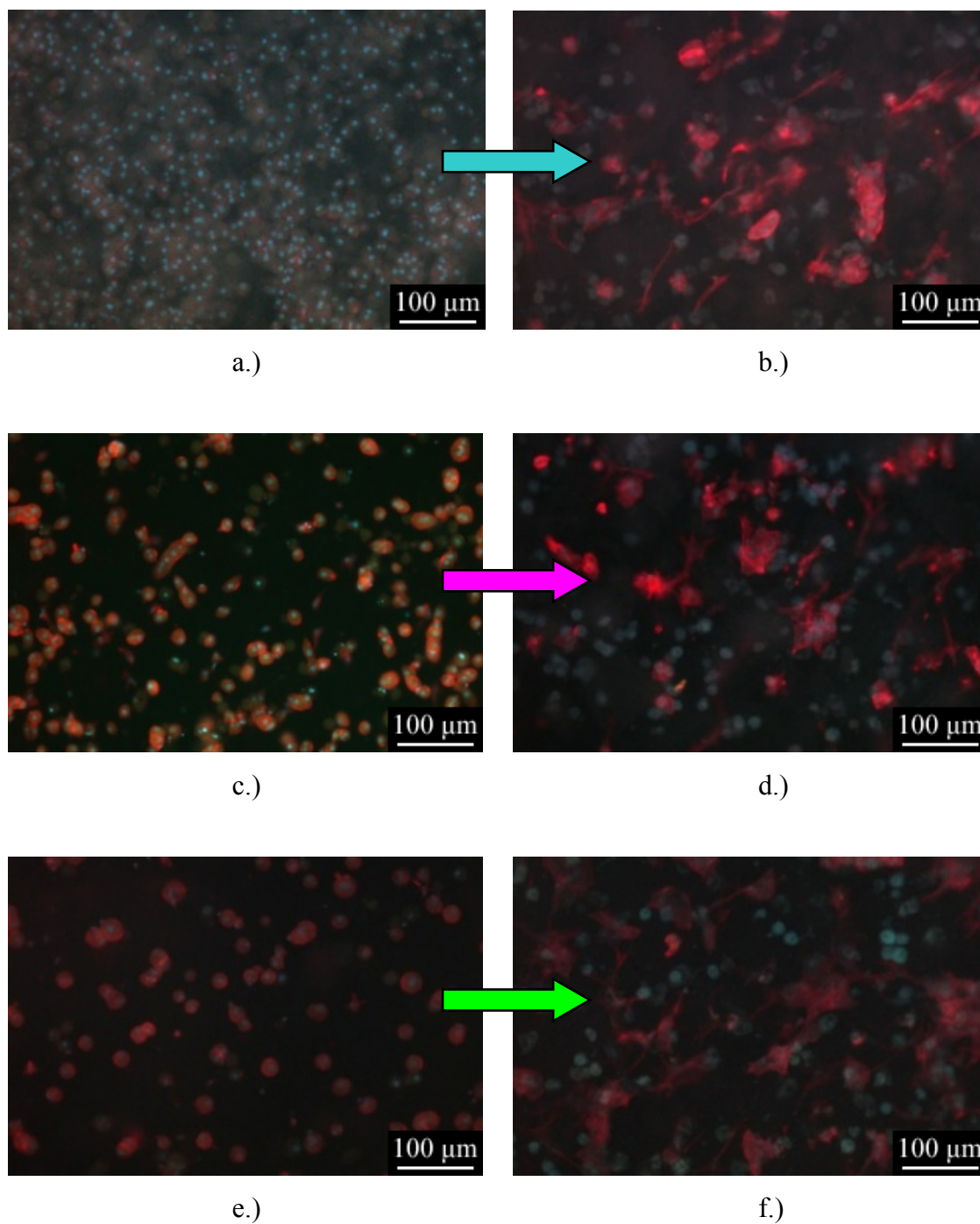
Směs rozpouštědel	Koncentrace roztoku [hm. %]	Označení vrstvy
THF/DMSO (9/1 obj.)	18	Vrstva č.1
ethylacetát/DMSO (9/1 obj.)	18	Vrstva č.2
aceton/ethanol (7/3 obj.)	16	Vrstva č.4

### 2.8.2. Testování proliferace buněk na vrstvách s rozdílnou morfologií

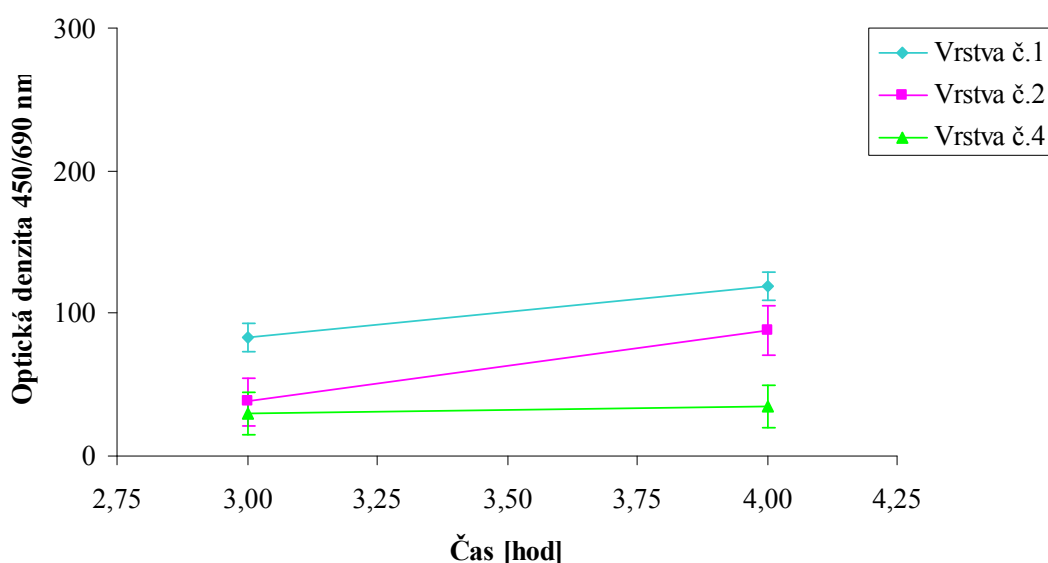
Pro testování proliferace buněk bylo využito primárních hepatocytů (jaterních buněk) izolovaných z dospělých jedinců krys. Hepatocyty byly ihned po izolaci osazeny na plazmou sterilizované PCL nanovláknenné vrstvy. Pro podporu buněčné kultury bylo přidáno Williamsovo medium E, L-glutamin a 10% - ní plodové telecí sérum.

Kultivace hepatocytů probíhala po dobu 1 až 6 dnů v inkubátoru se stálou teplotou 37 °C v 5% CO<sub>2</sub> atmosféře. K vyšetřování buněčné morfologie bylo využito fluorescenčních barviv Phaloidinu a 4,6-diamidino-2-phenylindolu (DAPI). Množství přeživších buněk bylo následně sledováno pomocí fluorescenčního mikroskopu. Vybrané snímky z tohoto mikroskopu jsou na Obr. 30. Díky fluorescenčnímu barvivu je ze snímků na první pohled patrné množství živých a neživých buněk. Živé buňky mají modře zbarvené jádro a červeně zbarvený cytoskelet, oproti tomu neživé buňky se vyznačují pouze světle zbarveným jádrem.

V průběhu kultivace buněk na PCL nanovláknenných vrstvách byly pravidelně prováděny WST-1 testy. Jedná se o testy intenzity proliferace buněk založené na štěpení tetrazoliové soli mitochondriálními enzymy. Výsledkem je barevný a nerozpustný formazan. Jeho množství úzce souvisí s počtem živých buněk. Změna zbarvení je měřena spektrofotometrem [28]. Výsledek WST-1 testu, který byl prováděn 6. den od začátku kultivace hepatocytů na PCL nanovláknenných vrstvách, je patrný z Grafu 8.



*Obr. 30: Snímky z fluorescenčního mikroskopu, které zobrazují hepatocyty kultivované na PCL nanovlákněných vrstvách: a.) vrstva č.1 – 1 den od začátku kultivace, b.) vrstva č.1 – 6 dní od začátku kultivace, c.) vrstva č.2 – 1 den od začátku kultivace, d.) vrstva č.2 – 6 dní od začátku kultivace, e.) vrstva č.4 – 1 den od začátku kultivace, f.) vrstva č.4 – 6 dní od začátku kultivace.*



*Graf 8: Výsledek WST-1 testu prováděného 6. den od začátku kultivace hepatocytů na PCL nanovlákněných vrstvách.*

### 2.8.3. Závěr k proliferaci buněk na vrstvách s rozdílnou morfologií

Snímky z fluorescenčního mikroskopu, stejně jako výsledky WST-1 testu, jednoznačně dokazují, že změna morfologie nanovlákněných vrstev může ovlivnit proliferaci buněk a to v kladném či záporném smyslu. Na porézních vláknech z PCL (vrstva č.1 a 2) docházelo k proliferaci buněk i 6. den od začátku kultivace hepatocytů, jak naznačují rostoucí přímky v Grafu 8. zatímco na hladkých vláknech (vrstva č.4) k proliferaci téměř nedocházelo již od samého začátku kultivace. Z těchto výsledků jednoznačně vyplývá, že poróznost má na průběh proliferace buněk významný vliv. Je také možné říci, že tyto výsledky řadí PCL porézní nanovláknena mezi vhodné kandidáty pro vývoj zařízení pro akutní či chronické selhání jater (BLAD).

## Závěr

Jedním z několika úkolů této diplomové práce bylo vypracovat rešerši týkající se rozdílných způsobů přípravy porézních nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování. Rešerše naznačila klady a zápory odlišných přístupů k tvorbě porézních nanovláken a předznamenala, které metody by bylo vhodné aplikovat v experimentální části. Pro výrobu porézních nanovláken byla vybrána metoda trojsložkového systému (rozpouštělo/srážedlo/polymer). Důležitý byl také výběr polymeru, který musel splňovat podmínku biologické akceptovatelnosti. Jako vhodný kandidát byl zvolen PCL.

Metodou trojsložkového systému se podařilo vyrobit vrstvy porézních nanovláken přímou cestou z polymerního roztoku, bez nutnosti odstraňování jedné z komponent bikomponentního vlákna nebo zvýšených nároků na laboratorní zařízení. Jako vhodné směsi rozpouštědel pro přípravu porézních nanovláken se ukázaly THF/DMSO (9/1 obj.) a ethylacetát/DMSO (9/1 obj.). V rámci pokusů o přípravu nanovláknenné vrstvy s porézními vlákny byla zjištěna vhodná koncentrace polymerního roztoku pro PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol), která činí 18 hm.%.

Úspěch dříve zmiňovaných směsí rozpouštědel spočívá v tom, že splňují všechny předpoklady pro tvorbu porézní struktury na povrchu vláken metodou trojsložkového systému. THF a ethylacetát se chovají k PCL jako rozpouštědla a DMSO je pro PCL srážedlem. Rozpouštědla spolu se srážedlem byla vhodně smísená v objemovém poměru 9/1, dále pak použitá rozpouštědla dosahovala vysokých hodnot tlaku par nad rozpouštědlem oproti srážedlu, které mělo tuto hodnotu nízkou.

Rešerše, týkající se rozdílných způsobů přípravy porézních nanovláken, upozornila na zajímavou možnost tvorby porézní struktury na povrchu vláken s přispěním vyhřívaného sběrného kolektoru. Zmíněná metoda byla upravena s ohledem na použitý polymer. Byl sledován zejména vliv teploty sběrného kolektoru na průběh zvlákňování a na výslednou morfologii vláken. Elektrostatickému zvlákňování na modifikovaném zařízení pro zvlákňování z tyčky byly podrobeny dva 18 hm.% - ní roztoky s obsahem THF/DMSO (9/1 obj.) a ethylacetát/DMSO (9/1 obj.). Elektrostatické zvlákňování probíhalo při teplotách kolektoru 18°C, 30°C, 40°C, 50°C a 60°C. Analýza vyrobených vrstev na SEM ukázala, že zahřívání kolektoru při elektrostatickém zvlákňování nevede ke zlepšení morfologie porézních vláken například ve smyslu prohlubování pórů, ale naopak se vlákna se zvyšující se teplotou slepovala a



tvorila téměř celistvou fólii. Negativní vliv měl zahřívání kolektor i na průběh zvlákňování. S rostoucí teplotou kolektoru se zvyšovala i teplota okolního vzduchu, což pro proces zvlákňování znamenalo zjevný pokles intenzity.

Následné pokusy směřovaly k výrobě nanovláknenných vrstev s neporézními vlákny, které měly posléze sloužit k porovnání s nanovláknennými vrstvami obsahujícími porézní vlákna z hlediska měrného povrchu. Ideou bylo připravit hladká vlákna se srovnatelnými průměry vláken, jaké měla vlákna porézní. Tento zdánlivě jednoduchý úkol nebyl splněn. Proto byla navržena jiná, neméně zajímavá alternativa pro porovnání měrných povrchů porézních a neporézních vláken. Bylo nutné vyrobit vlákna s daleko menšími a o mnoho většími průměry vláken než měla vlákna porézní. V tomto případě bylo dosaženo velmi dobrých výsledků. Hladká vlákna s průměry o mnoho menšími, než průměry vláken porézních (rozdíl středních hodnot průměrů vláken činí přibližně 0,5  $\mu\text{m}$ ) byla připravena z PCL roztoku, který obsahoval směs rozpouštědel aceton/ethanol (7/3 obj.). Neporézní vlákna s průměry až 3  $\mu\text{m}$  byla připravena z roztoku obsahujícího chloroform/methanol (9/1 obj.). V obou případech se jednalo o roztoky o koncentraci 16 hm. %.

Rozporuplných výsledků bylo dosaženo při analýze vrstev č.1, 2, 3 a 4 na přístroji ASAP 2020. U vrstev č.1 a 2 (vrstvy s porézními vlákny) byl očekáván vysoký měrný povrch, přinejmenším srovnatelný s vrstvou č.4 (vrstva s největším podílem průměrů vláken v rozmezí od 150 do 350 nm) a daleko vyšší než u vrstvy č.3 (vrstva s největším podílem průměrů vláken v rozmezí od 600 do 1100 nm). Vyhodnocování měrného povrchu podle BET ukázalo, že největší měrný povrch má vrstva č.4 a naopak nejmenší vrstva č.1. Měrné povrchy pro vrstvy č.2 a 3 vyšly téměř totožně. Tyto výsledky byly impulzem pro informativní výpočet měrného povrchu dle vzorce (1), kde byly zanedbány póry na povrchu vláken u vrstev č.1 a 2. Výsledky vypočteného měrného povrchu se výrazně lišily od naměřených hodnot. Nejvyššího měrného povrchu dosahovala i v tomto případě vrstva č.4, přibližně šestkrát menšího měrného povrchu dosahovala vrstva č.3, u vrstev č.1 a 2 byl měrný povrch srovnatelný.

Po srovnání naměřených a vypočtených hodnot měrných povrchů je zřejmé, že metoda BET není zcela vhodná pro posuzování nanovláknenných vrstev z hlediska měrného povrchu. Proto nelze vyvodit jednoznačný závěr o velikosti měrného povrchu porézních nanovláknenných vrstev a tedy ani vyvrátit předpoklad vyššího měrného povrchu u vrstev č.1 a 2 oproti vrstvám s hladkými vlákny (č.3 a 4). Měření ukázalo, že

vrstvy č.1 a 2 vykazují mikropóry, kdežto vrstvy č.3 a 4 mikropóry neobsahují, což je jediný pozitivní výsledek z hlediska porovnávání porézních a hladkých vláken metodou BET. Metoda BET neuspěla, co se týče měrného povrchu ani u vláken hladkých, kde byl u vrstvy č.3 naměřen měrný povrch pouze o jednotku menší než u vrstvy č.4. Podle vypočteného měrného povrchu by měla být tato hodnota až šestkrát vyšší.

I když metodou BET nebyl vysoký měrný povrch u porézních PCL vláken naměřen, proliferace buněk na těchto vláknech probíhala daleko úspěšněji v porovnání s vlákny hladkými. Tyto výsledky dokazují, že morfologie PCL nanovláknenné vrstvy má významný vliv na průběh proliferace buněk.

Diplomová práce úspěšně splnila všechny body zadání. Jako největší úspěch je nutné vyzdvihnout, že se díky spolupráci s 2. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy v rámci projektu GAČR podařilo nalézt vhodný substrát (nanovláknennou vrstvu s porézními PCL vlákny) pro úspěšnou proliferaci hepatocytů. Tento výsledek by mohl být výchozím bodem pro další experimenty v této oblasti. Do budoucna by bylo jistě optimální nalézt metody, které by přinesly více informací o porézní struktuře na povrchu PCL nanovláken. Důležité je také nadále spolupracovat na vývoji zařízení pro akutní či chronické selhání jater (BLAD).

**Použitá literatura**

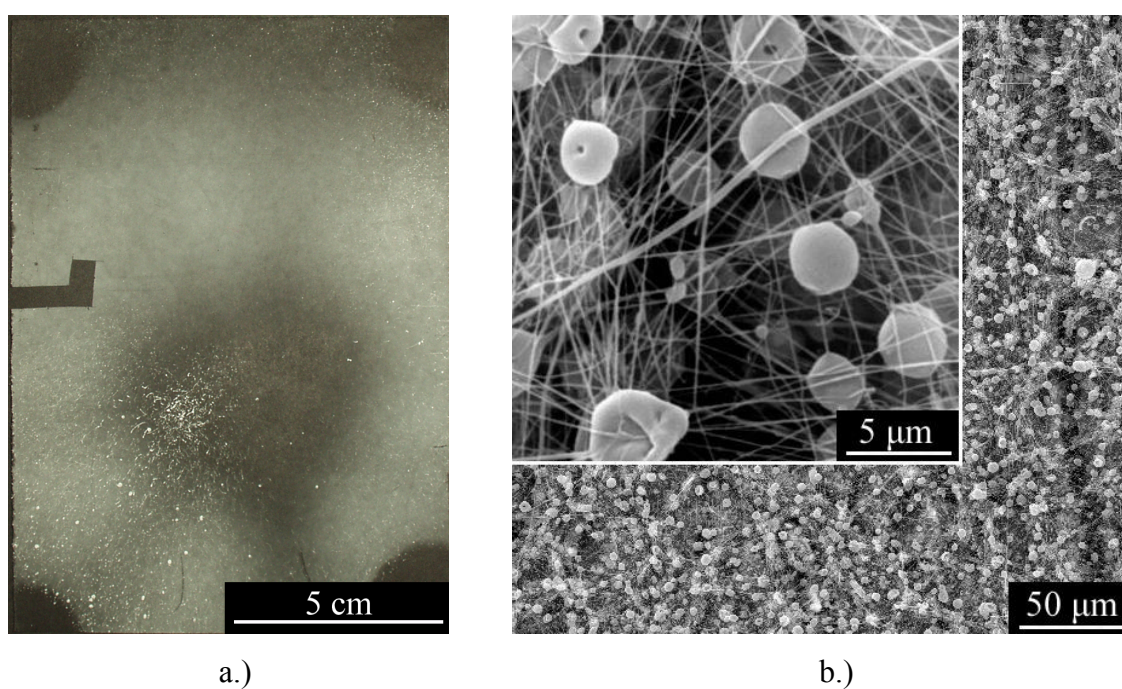
- [1] Lukáš, D., Martinová, L., Amler, E., Čapek, L., Koláčná, L., Košťáková, E., Novák, O., Vodsedálková, K.: *Lékařské textilie, 2.díl*. 1. vyd. Praha: Asociace inovačního podnikání ČR, 2008. 248 s.
- [2] Ghasemi-Mobarakeh, L., Morshed, M., Karbalaie, K., Fesharaki, M., Nasr-Esfahani, M. H., Baharvand, H.: Electrospun Poly ( $\epsilon$ -Caprolactone) nanofibers Mat as Extracellular Matrix, *Yakhteh Medical Journal*, Vol. 10, No. 3, pp. 179 - 184, 2008.
- [3] Vokurka, M., Hugo, J.: *Velký lékařský slovník*. 8. vyd. Praha: Maxdorf, 2009. 1144 s. ISBN 978-80-7345-166-0.
- [4] Fischer, P. J., Mikos, A. G., Bronino J. D.: *Tissue engineering*. USA: CRC Press, 2007. ISBN 0-8493-9026-5.
- [5] Domb, A. J., Kost, J., Wiseman, D. M.: *Handbook of Biodegradable Polymers*. Amsterdam: Harwood Academic Publisher, 1997. 526 s. ISBN 90-5702-153-6.
- [6] Gogotsi, Y.: *Nanomaterials Handbook*. USA: CRC Press, 2006. 771 s. ISBN 0-8493-2308-8.
- [7] Laurencin, C. T., Nair, L. S.: *Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold*. USA: CRC Press, 2008. 252 s. ISBN 978-1-4200-5182-7.
- [8] Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.E., Lim, T. CH., Ma, Z.: *An Introduction to Electrospinning and nanofibers*, Singapore: World Scientific Publishing, 2005. ISBN 981-256-415-2.
- [9] Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S.V., Tamura, H.: Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications, *Biotechnology Advances*, Vol. 28, pp. 142-150, 2010.
- [10] Sill, T. J., Recum, H. A.: Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering, *Biomaterials*, Vol. 29, pp. 1989-2006, 2008.
- [11] Agarwal, S., Wendorff, J. H., Greiner, A.: Use of electrospinning technique for biomedical applications, *Polymer*, Vol. 49, pp. 5603-5621, 2008.
- [12] Schneider, P.: *Textura porézních látek*. Praha: Ústav chemických procesů AV ČR, 2007. 68 s.

- 
- [13] Han, S. O., Son, W. K., Cho, D., Youk, J. H., Park, W. H.: Preparation of porous ultra-fine fibres via selective thermal degradation of electrospun polyetherimide/poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fibres, *Polymer degradation and stability*, Vol. 83, pp. 257-262, 2004.
- [14] You, Y., Youk, J. H., Lee, S. W., Min B. M., Lee, S. J., Park, W. H.: Preparation of porous ultrafine PGA fibers via selective dissolution of electrospun PGA/PLA blend fibers, *Materials letters*, Vol. 60, No. 6, pp. 757-760, 2006.
- [15] Kim, H. K., Jung, Y. H., Kim, H. Y., Lee, D. R.: Effect of Collector Temperature on the Porous structure of Electrospun fibers, *Macromolecular Research*, Vol. 14, No. 1, pp. 59-65, 2006.
- [16] Qi, Z., Yu, H., Chen, Y., Zhu, M.: Highly porous fibers prepared by electrospinning a ternary system of nonsolvent/solvent/poly(l-lactic acid), *Materials Letters*, Vol. 63, No. 3-4, pp. 415-418, 2009.
- [17] Bartovská, L., Šišková, M.: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2005. ISBN 80-7080-579-X
- [18] PENTA [online]. 2010 [cit. 2010-03-22]. Čisté a laboratorní chemikálie. Dostupné z WWW:  
<<http://www.penta-chem.cz/ciste-laboratorni-chemikalie.php>>.
- [19] Dimethylacetamide In *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 18 July 2005, 22 September 2009 [cit. 2010-03-20]. Dostupné z WWW:  
<<http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethylacetamide>>.
- [20] Ethanol In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 22. 1. 2005, 12. 3. 2010 [cit. 2010-03-20]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Ethanol>>.
- [21] Octan ethylnatý In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 10. 5. 2008, 15. 3. 2010 [cit. 2010-03-20]. Dostupné z WWW:  
<[http://cs.wikipedia.org/wiki/Octan\\_ethylnat%C3%BD](http://cs.wikipedia.org/wiki/Octan_ethylnat%C3%BD)>.
- [22] Methanol In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 29. 1. 2005, 12. 11. 2009 [cit. 2010-03-20]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Methanol>>.

- 
- [23] *Laboratoře elektronové mikroskopie* [online]. 5. května 2008 [cit. 2010-03-22]. Tescan VEGA TS 5130MM . Dostupné z WWW: <<http://www.isibrno.cz/lem/tescan.html>>.
- [24] *Ústav organické technologie* [online]. 2010 [cit. 2010-03-22]. Přístrojové vybavení. Dostupné z WWW: <<http://tresen.vscht.cz/kot/vyzkum/pristrojove-vybaveni/>>
- [25] Sedláčková, Z.: *Vliv složení roztoku na průběh elektrostatického zvlákňování biodegradabilního polymeru e-kaprolaktonu*. Liberec, 2009. 70 s. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.
- [26] Brezovianová, D.: *Elektrostatické zvlákňovanie polykaprolaktónu pre aplikáciu v tkanivovom inžinierstve*. Liberec, 2008. 69 s. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.
- [27] Neckář, B.: *Morfologie a strukturní mechanika obecných vláknenných útvarů*. 1. vyd. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 1998. 243 s. ISBN 80-7083-318-1.
- [28] *Metoda měření inhibice růstu a stanovení buněčné apoptózy a nekrózy* [online]. [cit. 2010-05-10]. Dostupné z WWW: <<http://www.enjoy.cz/index.php?p=ivmp-inhibice-rustu>>.

## Seznam příloh

- Příloha 1: Elektrostaticky zvlákněné roztoky PCL na podkladový papír a jejich SEM snímky
- Příloha 2: Naměřená data na přístroji ASAP 2020 (k dispozici na CD)
- Příloha 3: Průměry vláken naměřené pomocí softwaru Lucia G (k dispozici na CD)
- Příloha 4: Třídící tabulky pro konstrukci histogramů (k dispozici na CD)

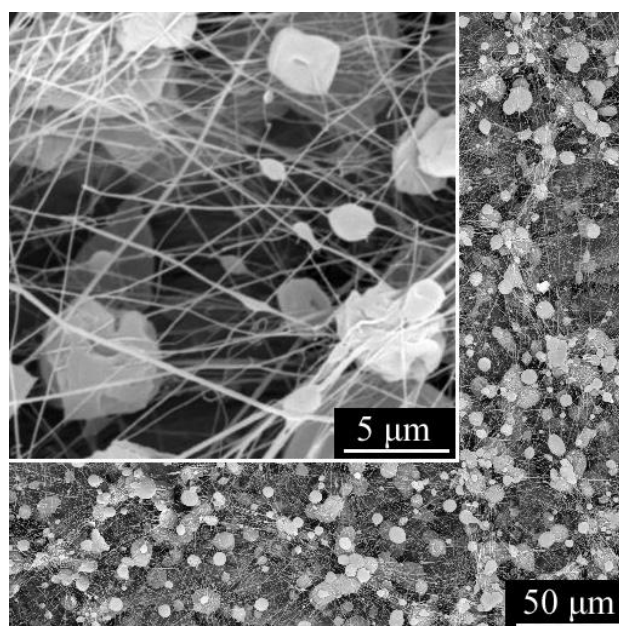
**Příloha 1:****Elektrostaticky zvlákněné roztoky PCL na podkladový papír a jejich SEM snímky**

*Elektrostaticky zvlákněný 8 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*





a.)

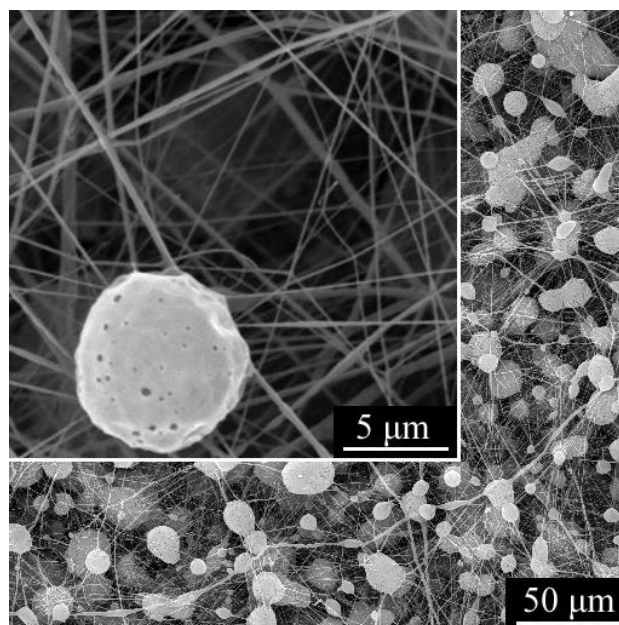


b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 10 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



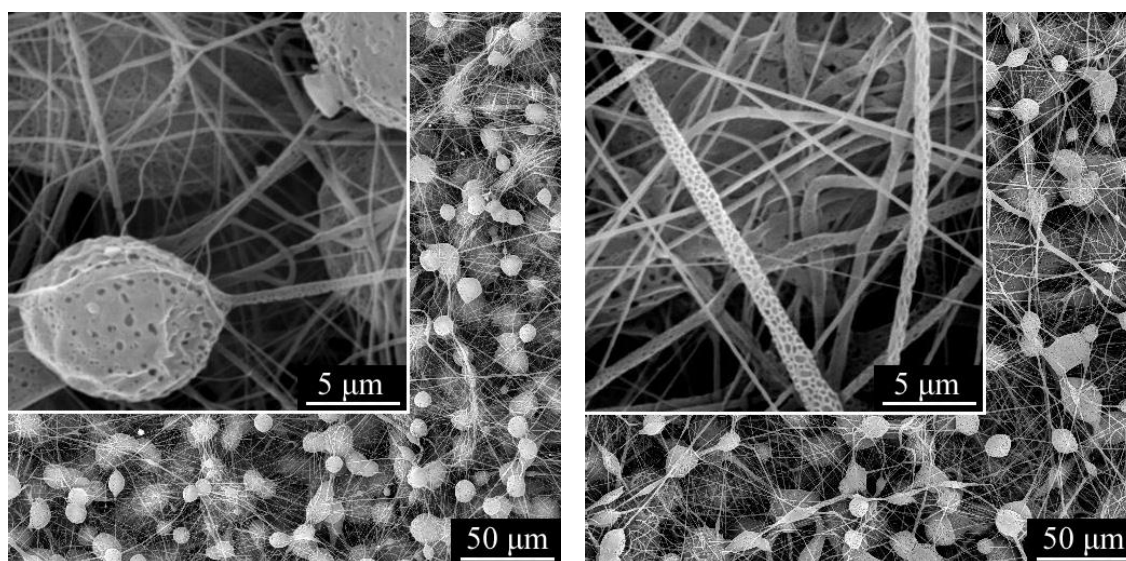
a.)



b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 12 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

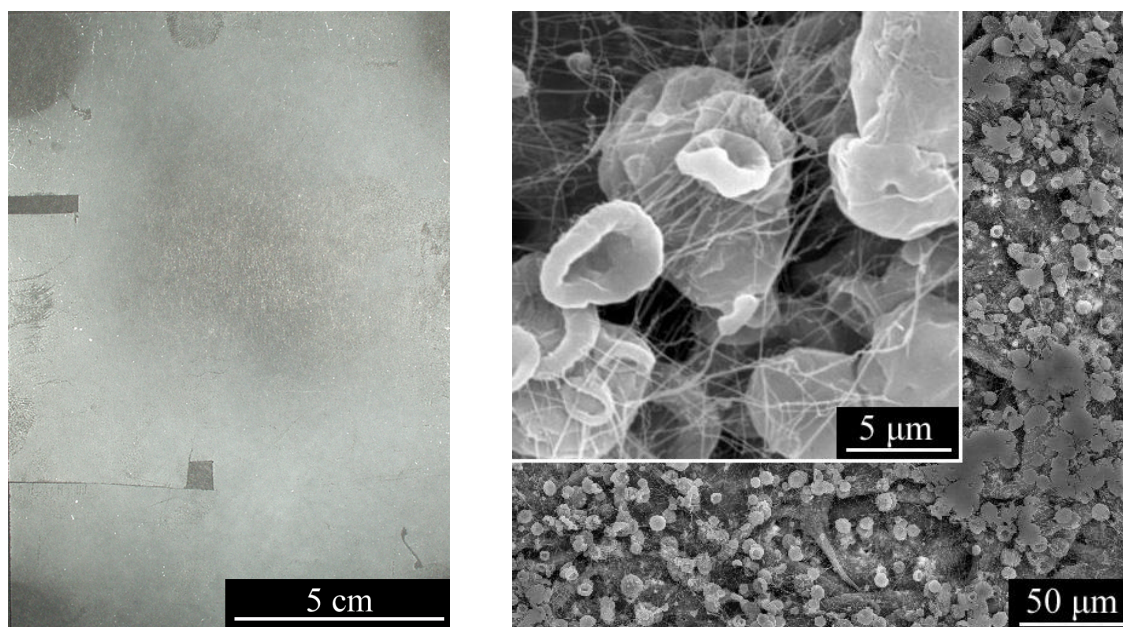




a.)

b.)

SEM snímky elektrostaticky zvlákněných roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMSO (9/1 obj.): a.) 14 hm.% -ní roztok PCL, b.) 16 hm.% -ní roztok PCL.

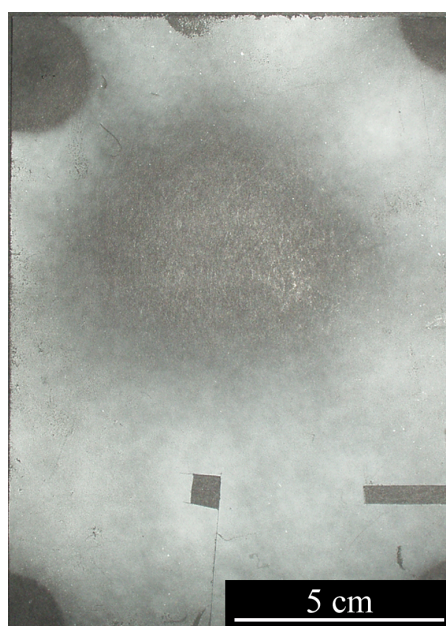


a.)

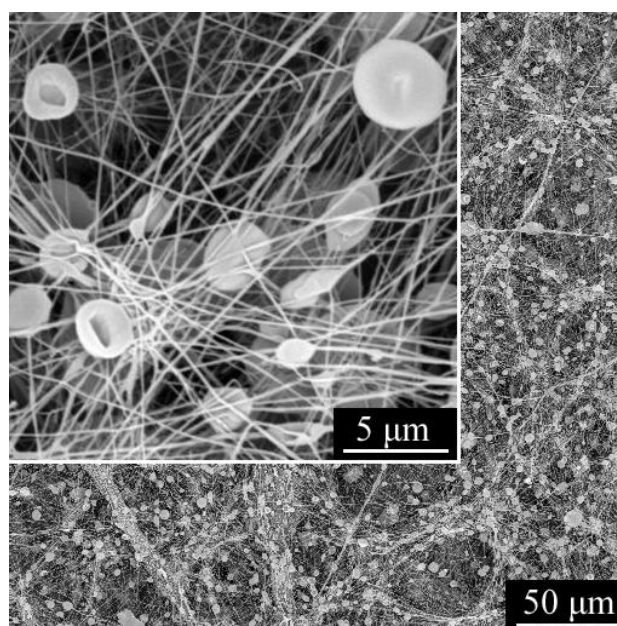
b.)

Elektrostaticky zvlákněný 8 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.





a.)

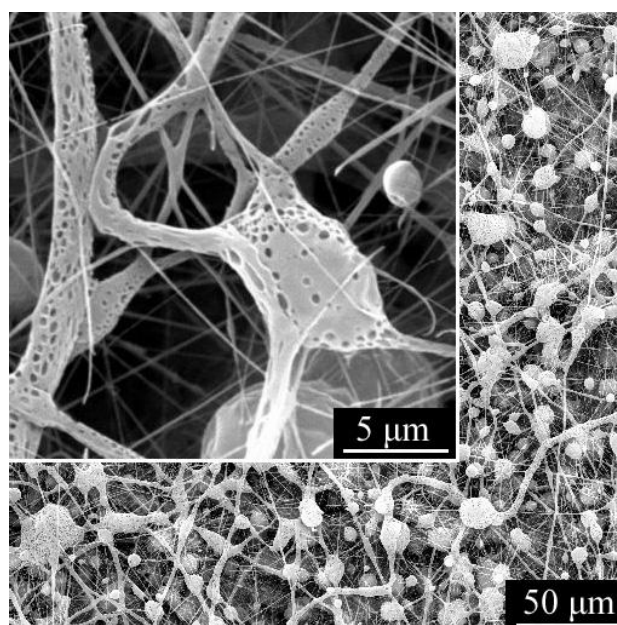


b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 10 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

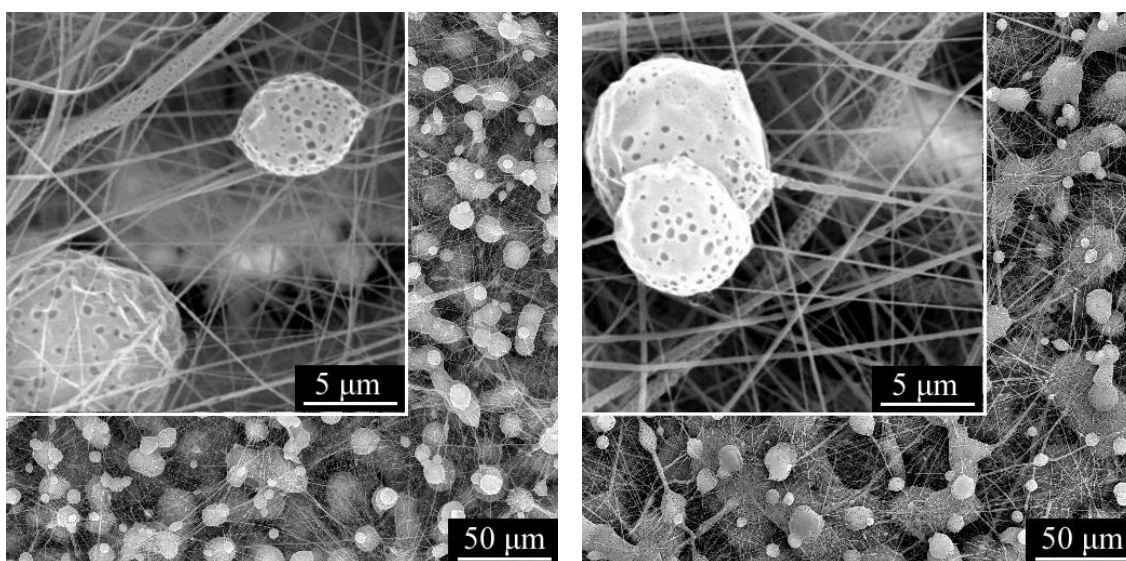


a.)



b.)

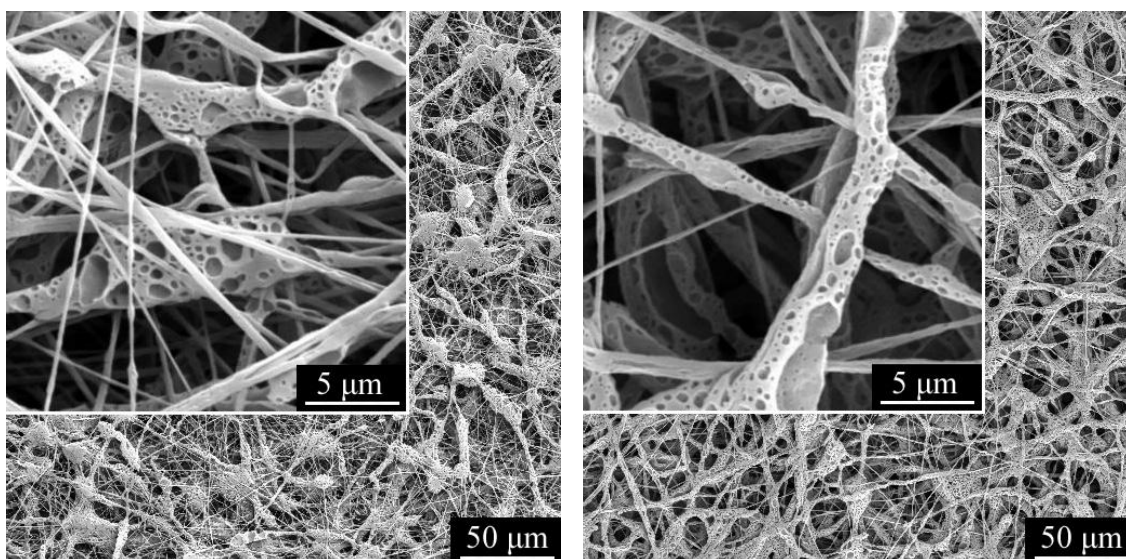
*Elektrostaticky zvlákněný 12 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



a.)

b.)

SEM snímky elektrostaticky zvlákněných roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (9/1 obj.): a.) 14 hm.% -ní roztok PCL, b.) 16 hm.% -ní roztok PCL.

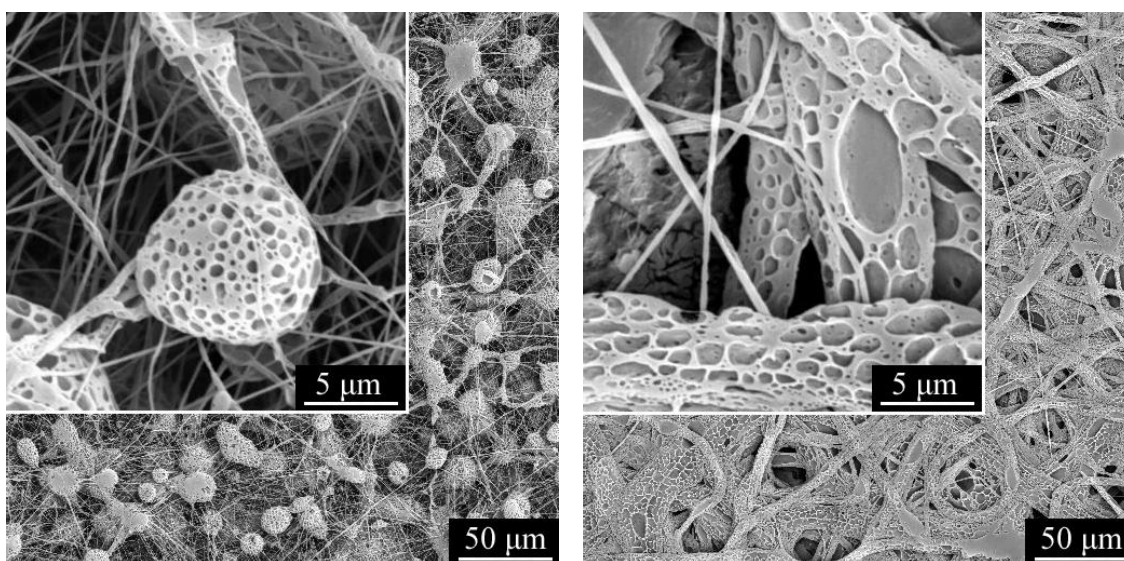


a.)

b.)

SEM snímky elektrostaticky zvlákněných roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMSO (7/3 obj.): a.) 14 hm.% -ní roztok PCL, b.) 18 hm.% -ní roztok PCL.

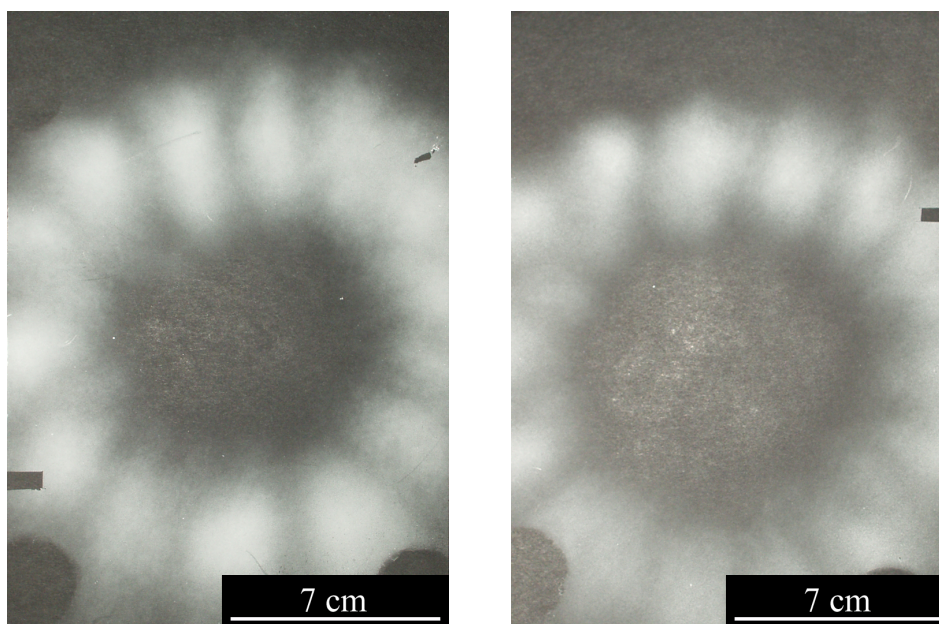




a.)

b.)

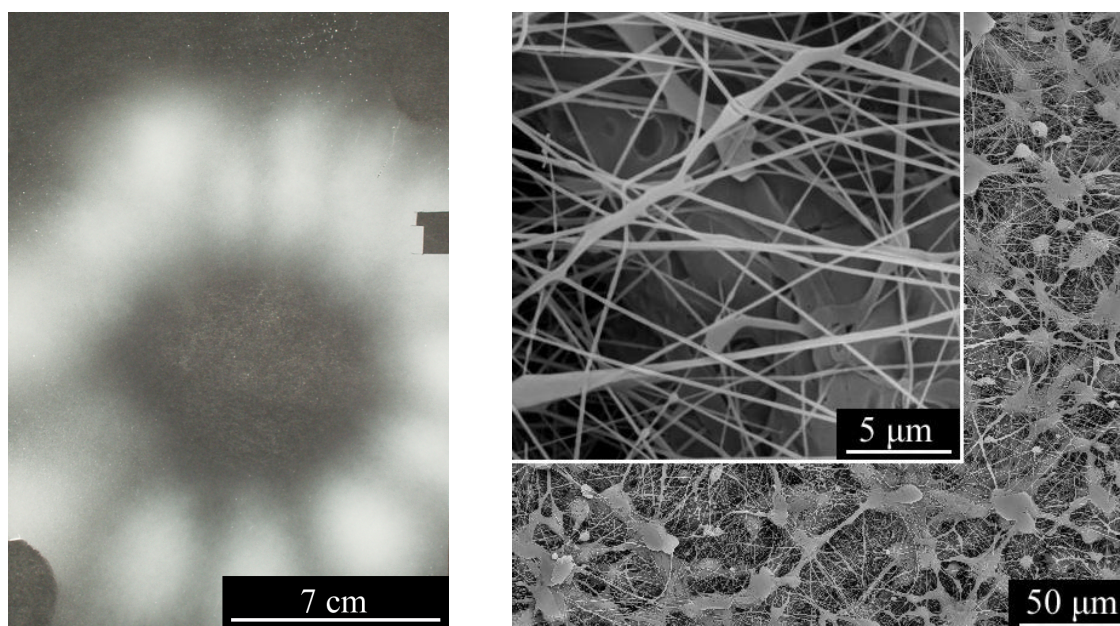
*SEM snímky elektrostaticky zvlákněných roztoků PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMSO (7/3 obj.): a.) 14 hm.% -ní roztok PCL, b.) 18 hm.% -ní roztok PCL.*



a.)

b.)

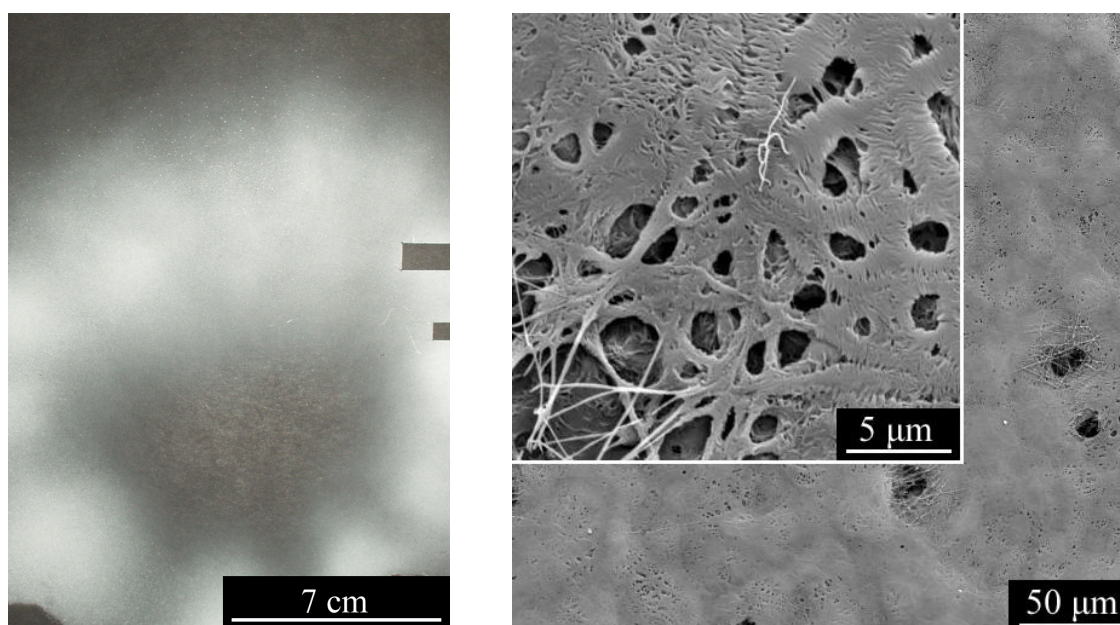
*Vrstvy nanovláken na podkladovém papíře připravené elektrostatickým zvlákňováním PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel:*  
*a.) ethylacetát/DMA (8/2 obj.) – 18 hm.% -ní roztok PCL,*  
*b.) ethylacetát/DMF (8/2 obj.) – 18 hm.% -ní roztok PCL.*



a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 18 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMA (7/3 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

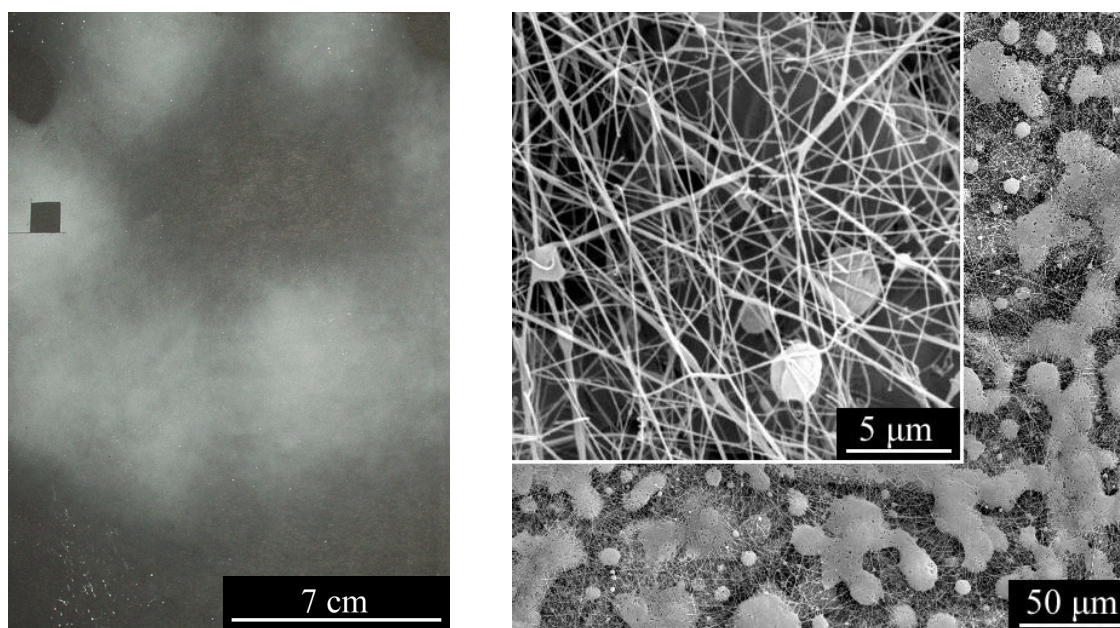


a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 20 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMA (7/3 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

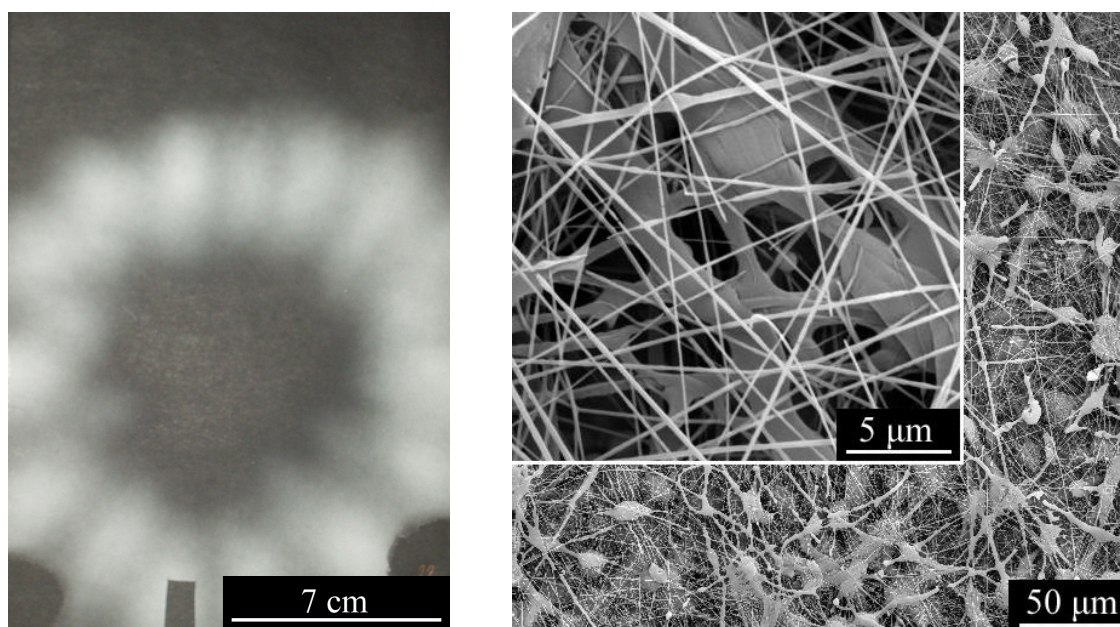




a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 16 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMA (6/4 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

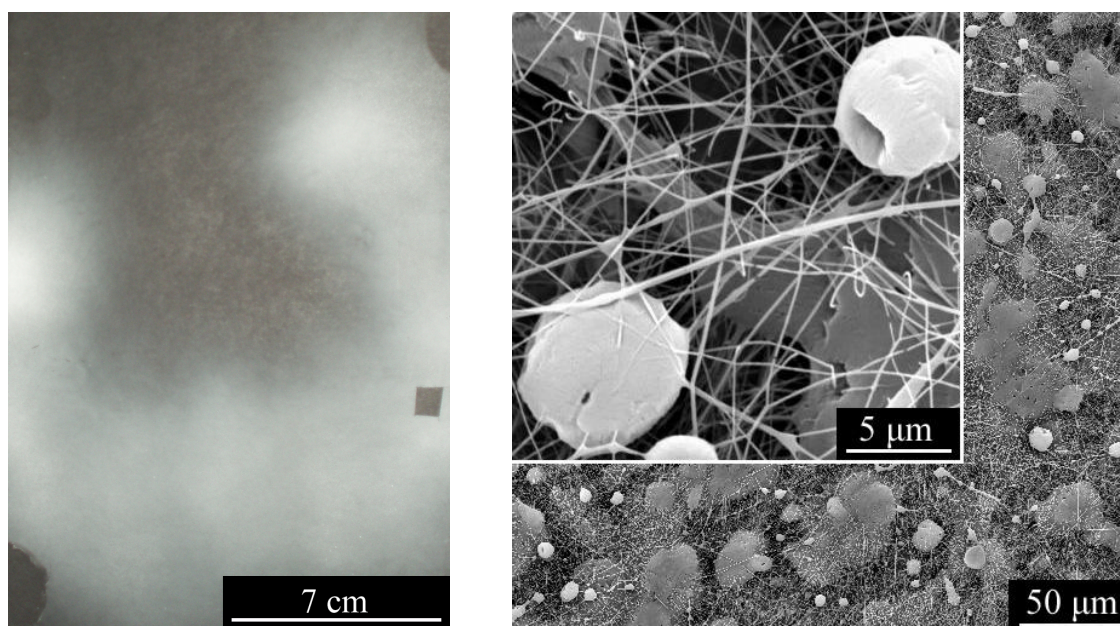


a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 18 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMF (7/3 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

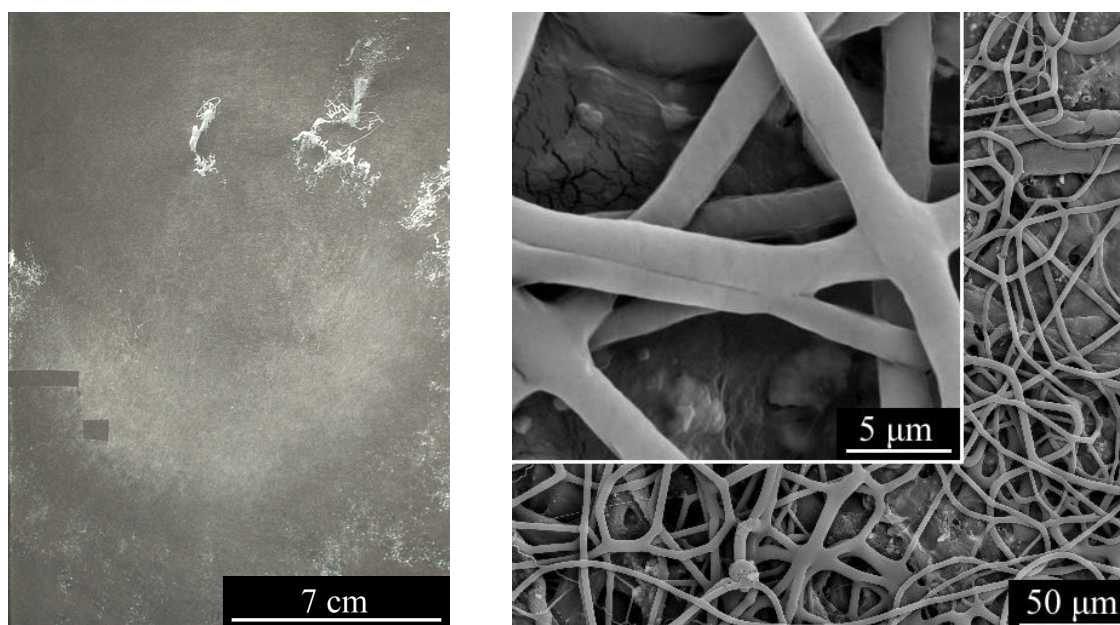




a.)

b.)

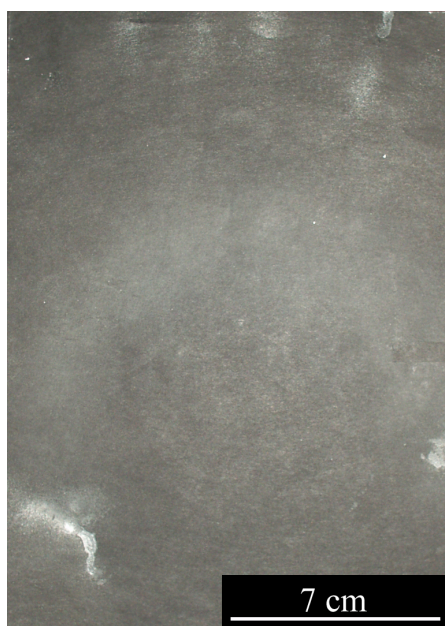
*Elektrostaticky zvlákněný 20 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát/DMF (7/3 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



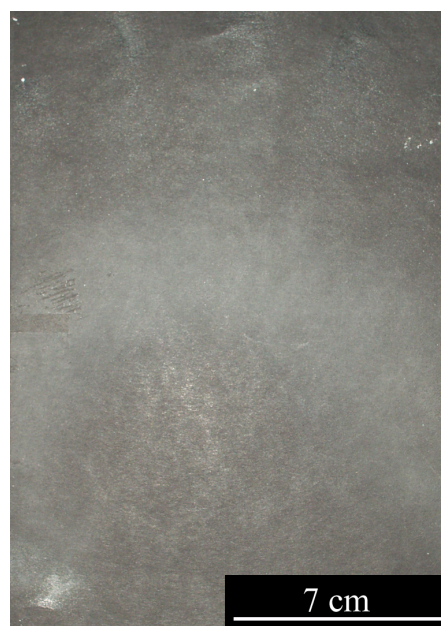
a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 18 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel chloroform/ethanol (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



a.)



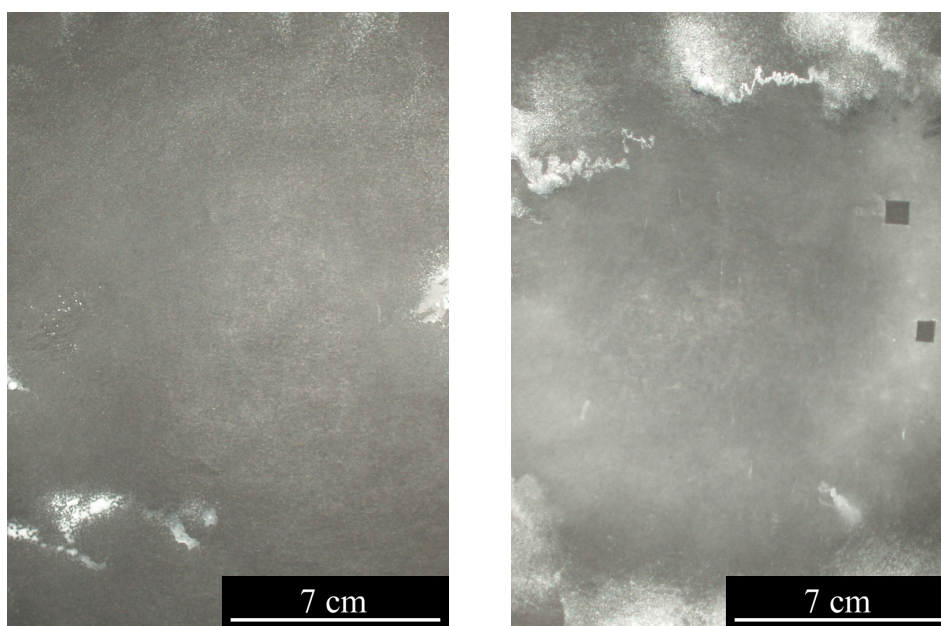
b.)



c.)

*Vrstvy nanovláken na podkladovém papíře připravené elektrostatickým zvlákňováním PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel chloroform/ethanol (9/1): a.) 12 hm.% -ní roztok PCL, b.) 14 hm.% -ní roztok PCL, c.) 16 hm.% -ní roztok PCL.*





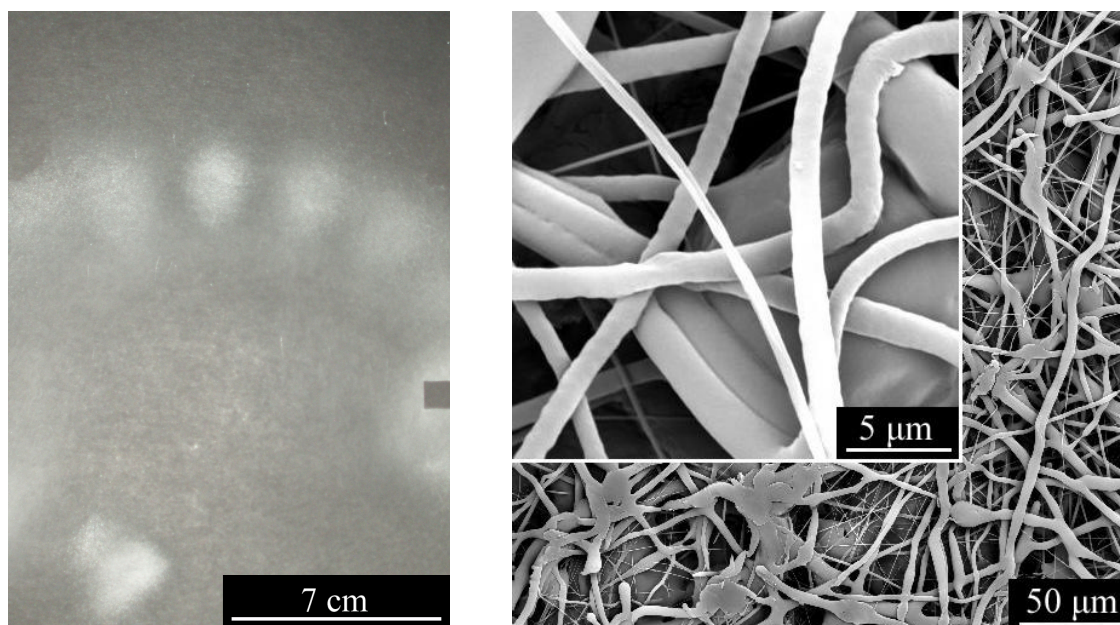
a.)

b.)

*Vrstvy nanovláken na podkladovém papíře připravené elektrostatickým zvlákňováním PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím rozpouštědla a směsi rozpouštědel:*

*a.) ethylacetát – 18 hm.% -ní roztok PCL,*

*b.) chloroform/methanol (9/1 obj.) – 16 hm.% -ní roztok PCL.*



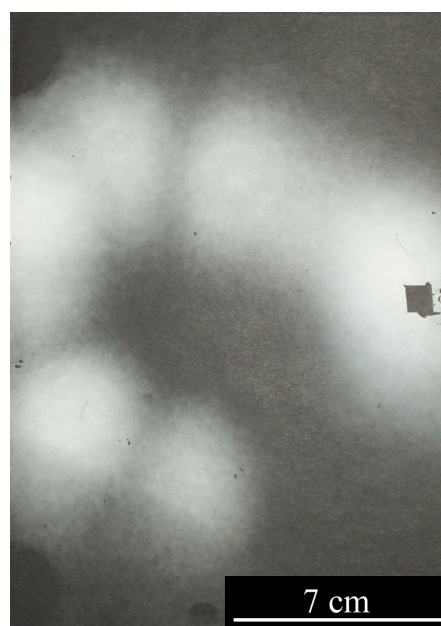
a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 14 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel chloroform/methanol (9/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



a.)

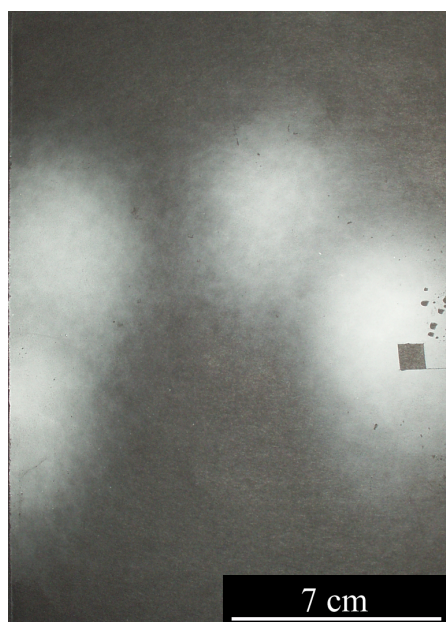


b.)

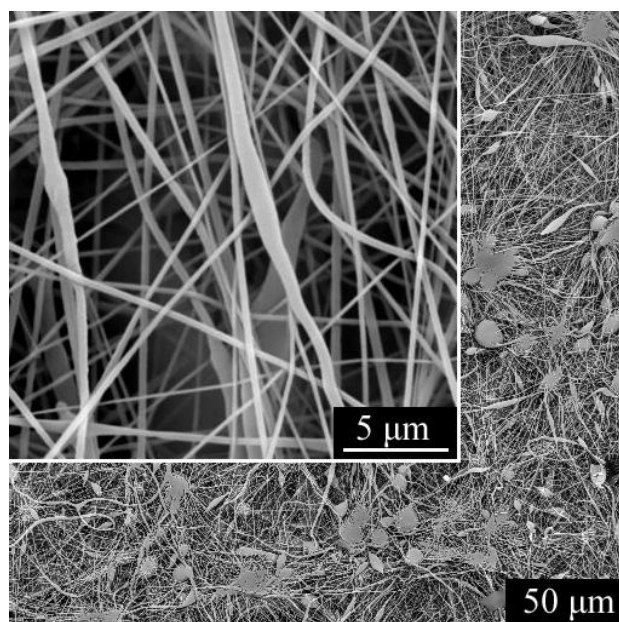
*Vrstvy nanovláken na podkladovém papíře připravené elektrostatickým zvlákňováním*

*PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel:*

*a.) chloroform/methanol (9/1 obj.) – 18 hm.% -ní roztok PCL, b.) aceton/ethanol (7/3 obj.) – 16 hm.% -ní roztok PCL.*



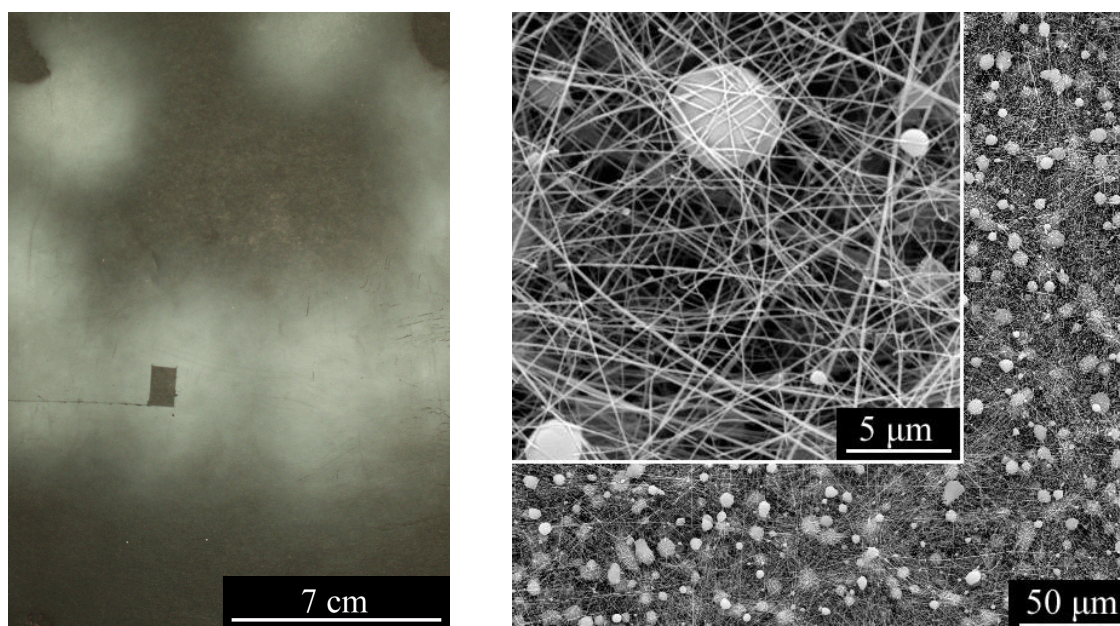
a.)



b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 18 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel aceton/ethanol (7/3 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*

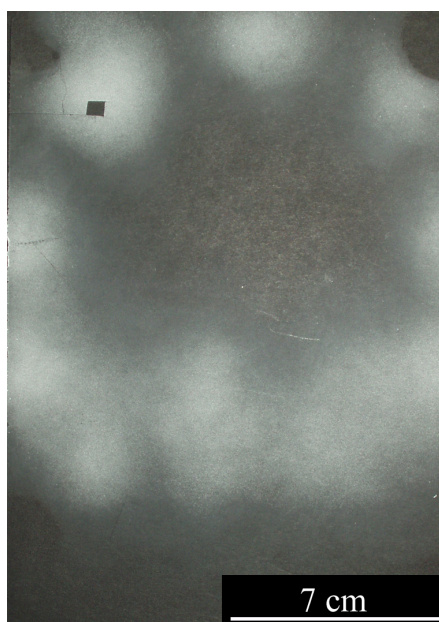




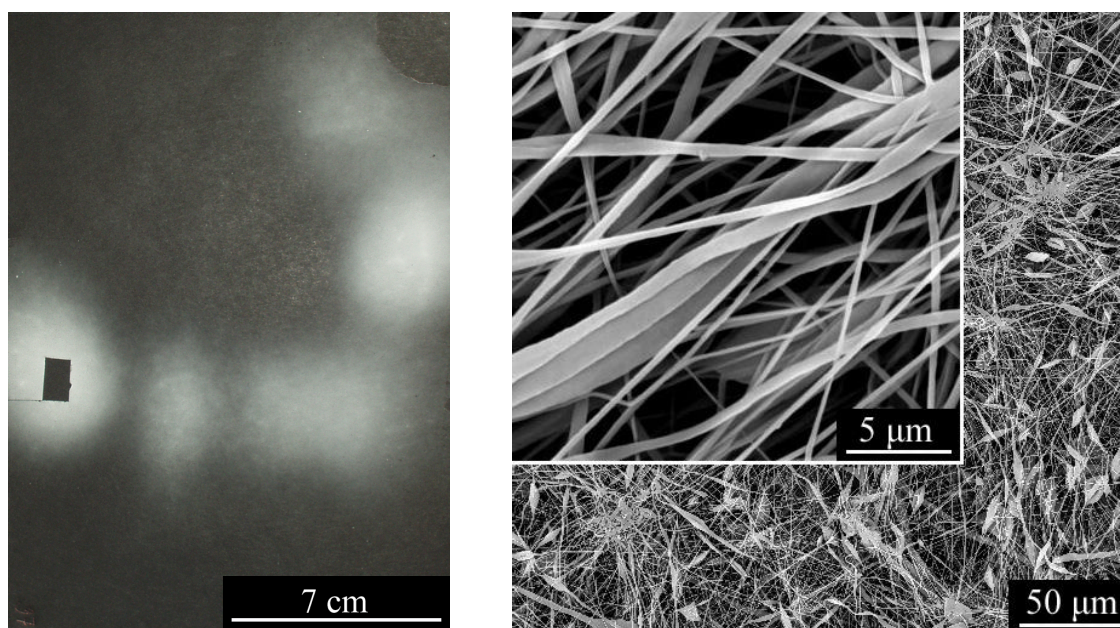
a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 16 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMF (1/1 obj.): a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



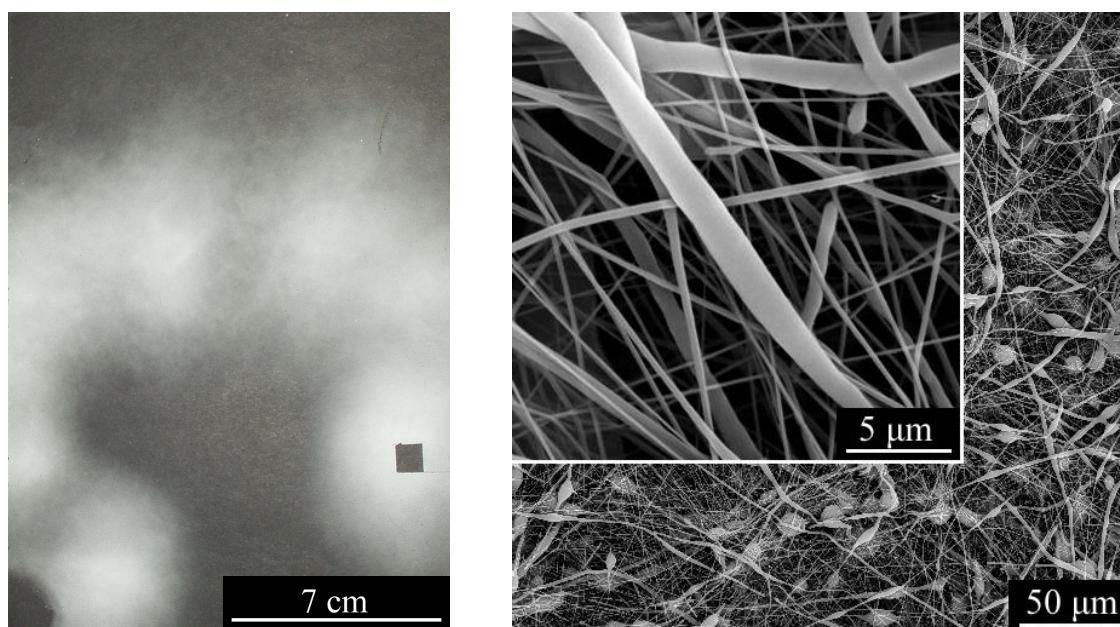
*Vrstva nanovláken na podkladovém papíře připravené elektrostatickým zvlákněním PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím směsi rozpouštědel THF/DMF (1/1 obj.) - 18 hm.% -ní roztok PCL*



a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 9 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 80\,000$  g/mol) s použitím acetonu: a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



a.)

b.)

*Elektrostaticky zvlákněný 18 hm.% -ní roztok PCL ( $M_n = 60\,000$  g/mol) s použitím acetonu: a.) vrstva PCL nanovláken na podkladovém papíře, b.) SEM snímek připravených nanovláken.*



**Příloha 2:****Naměřená data na přístroji ASAP 2020***Souhrn naměřených hodnot pro vrstvu č.1.*

Vrstva č.1			
$p/p_0$ [-]	$V_a$ [cm <sup>3</sup> /g]	Průměr pórů [nm]	$dV/dr$ [cm <sup>3</sup> *g <sup>-1</sup> *nm <sup>-1</sup> ]
0,010964617	0,320639952	154,7528421	6,72928E-06
0,047047448	0,558523966	129,1294308	7,2693E-05
0,068879442	0,626114951	59,99156053	1,9771E-05
0,079872432	0,65507811	46,7897284	9,80457E-06
0,099599848	0,700071832	43,46198813	4,95937E-05
0,121793476	0,74126475	30,5325131	3,70753E-05
0,140029797	0,765630655	24,18756994	3,00399E-05
0,159704305	0,787693721	21,31133176	0,000113757
0,180950315	0,811837795	18,98718607	0,000126781
0,200389324	0,822324826	15,02815801	3,85133E-05
0,249809864	0,854116887	12,24060411	2,33946E-05
0,300511365	0,864327722	11,39543992	0,001368585
0,35002774	0,855167902	9,866066358	3,04866E-05
0,421063872	0,81756045	8,106000148	2,03394E-05
0,471912698	0,790541265	7,284672907	0,000188719
0,521969239	0,774362595	1,819175111	1,33045E-05
0,571830982	0,753404468		
0,621073012	0,75773161		
0,65044239	0,772396515		
0,700385622	0,768344959		
0,760345652	0,774955561		
0,77185826	0,832251998		
0,802382288	0,865850342		
0,840244405	0,934595501		
0,840770065	0,969455295		
0,861821824	1,011467386		
0,895468993	1,146727996		
0,905923477	1,315765493		
0,916240521	1,500363362		
0,926402047	1,567809931		
0,95456846	1,960771251		
0,95636173	2,015438689		
0,961090333	2,053307664		
0,984298308	2,95457812		
0,985742621	3,512918412		
0,989962331	3,74990283		
1,005279332	8,878705567		
1,005279332	8,878705567		
0,960357796	3,557658275		
0,940542476	2,559904575		
0,920926052	2,026476838		

---

0,895706824	1,941037074
0,871174152	1,576897259
0,860677567	1,780030908
0,826602815	1,775046431
0,821055186	1,500504167
0,799338041	1,485981052
0,751517371	1,658060923
0,721338696	1,516251139
0,700515182	1,531623234
0,631497901	1,577985067
0,581057793	1,609952529
0,53161638	1,61566363
0,481373847	1,625701238
0,430205965	1,636736628
0,380596548	1,639185162
0,330025005	1,628640552
0,30124827	1,614833534
0,251147599	1,595455288
0,199580066	1,55135839
0,180172947	1,527809396
0,159954836	1,493072302
0,140166732	1,464586827

*Souhrn naměřených hodnot pro vrstvu č.2.*

Vrstva č.2			
$p/p_0$ [-]	$V_a$ [cm <sup>3</sup> /g]	Průměr pórů [nm]	$dV/dr$ [cm <sup>3</sup> *g <sup>-1</sup> *nm <sup>-1</sup> ]
0,011166355	0,307605766	244,5599425	1,0644E-05
0,045941249	0,4990841	196,7586369	1,3818E-05
0,070115522	0,562751443	181,3544007	1,67296E-05
0,081920694	0,596710023	156,3120222	1,50636E-05
0,100450204	0,626417872	134,578782	2,17128E-05
0,120793429	0,653380051	119,4340361	2,32886E-05
0,139557095	0,671526053	108,1007502	3,03725E-05
0,160683992	0,695855659	93,98634061	2,32204E-05
0,179662908	0,707581319	81,3625816	3,52718E-05
0,199744107	0,723544883	70,34777905	3,1185E-05
0,249691886	0,729087569	64,12396221	5,08396E-05
0,301426728	0,739400371	58,27273598	3,83803E-05
0,35028346	0,730765569	51,35072299	4,2118E-05
0,42134613	0,704762386	44,18443729	4,0208E-05
0,469954174	0,690638498	39,16472118	5,98846E-05
0,520210356	0,690470591	35,05905436	5,14555E-05
0,569848284	0,675063233	30,68240472	5,68155E-05
0,620718386	0,678690919	27,41741393	5,46605E-05
0,650451539	0,6941216	24,28044893	5,86055E-05
0,700097858	0,707973154	21,60314572	4,59586E-05
0,76093518	0,741481597	19,42795869	7,55213E-05
0,770890553	0,796256542	15,29812781	4,29017E-05
0,79977616	0,826477534	12,59565493	2,45846E-05
0,838868961	0,884479006	11,79987944	0,001197434
0,839898668	0,938826258	10,22840174	2,2972E-05
0,85933054	0,97767018	8,526620672	1,92407E-05
0,895130778	1,127228798	7,773127126	0,000238779
0,905750741	1,229912553	6,469155779	4,3498E-06
0,914604143	1,297095997	4,546439594	6,41908E-06
0,925578795	1,42499075		
0,932248504	1,515756014		
0,940887818	1,667097326		
0,947910582	1,811399352		
0,952292002	1,938957025		
0,959716532	2,129388788		
0,964316883	2,292801063		
0,968831074	2,481237502		
0,97018989	2,569981817		
0,974586567	2,788814329		
0,977593857	3,012114268		
0,981208823	3,25299343		
0,982802038	3,432259487		
0,984697066	3,633690554		
0,986502561	3,861515653		
0,988861408	4,146292239		
0,989772231	4,307058027		
0,990541092	4,439262164		
0,9950229	5,651856897		

---

0,9950229	5,651856897
0,974369079	3,770777589
0,956850089	2,842384334
0,935075484	2,376515977
0,913939457	2,144738784
0,887090268	1,993028898
0,856344593	1,885191092
0,825430038	1,829581171
0,801558479	1,817934448
0,780695277	1,794053026
0,771248875	1,800733647
0,719823289	1,798740221
0,701077499	1,79804252
0,650181328	1,79289815
0,601490032	1,796937647
0,530368533	1,784438735
0,501776299	1,776461684
0,449726463	1,769049024
0,381439638	1,757549029
0,351558653	1,745947719
0,300430469	1,724132185
0,249767159	1,68931229
0,200371812	1,640416233
0,180843247	1,617373251
0,159605263	1,585607166
0,139931879	1,551699354



*Souhrn naměřených hodnot pro vrstvu č.3.*

Vrstva č.3			
p/p <sub>0</sub> [-]	V <sub>a</sub> [cm <sup>3</sup> /g]	Průměr pórů [nm]	dV/dr [cm <sup>3</sup> *g <sup>-1</sup> *nm <sup>-1</sup> ]
0,011538173	0,113549102	110,0625546	3,98086E-06
0,047326961	0,264756309	103,3511378	1,07763E-06
0,069384923	0,350754878	94,22424536	1,34326E-05
0,081118317	0,383043782	82,75217971	1,27656E-05
0,099957251	0,43693108	74,08404476	3,78907E-06
0,120292372	0,489569629	66,74811298	1,39722E-05
0,140677726	0,519890386	58,88091983	1,71337E-05
0,159885697	0,548501875	51,07641912	1,35025E-05
0,181248447	0,581433851	43,28167192	1,35782E-05
0,201582275	0,603387369	37,78525702	1,48175E-05
0,250175261	0,637465517	33,17880289	1,6475E-05
0,301306435	0,665323071	29,2086143	2,93176E-05
0,350363737	0,653073572	25,65359064	2,51166E-05
0,419558794	0,603998449	22,31036056	1,08478E-05
0,470027023	0,56278429	20,05509111	9,32715E-06
0,519755843	0,517165635	15,75273683	1,53578E-06
0,570751944	0,457677661	8,417579273	1,54926E-05
0,6210241	0,429148699		
0,670945715	0,398579233		
0,720817536	0,369306655		
0,760422702	0,341605477		
0,789547375	0,325748492		
0,819652224	0,331117583		
0,821483963	0,403958856		
0,841581761	0,448940838		
0,880244768	0,416886309		
0,909862636	0,465412997		
0,916142561	0,4875048		
0,925962767	0,530828633		
0,93480127	0,61308411		
0,941371343	0,696846864		
0,948782777	0,771962689		
0,953762401	0,829138757		
0,960926958	0,926433111		
0,966090097	1,017579123		
0,970219617	1,128430999		
0,973313791	1,216120768		
0,975624939	1,249795044		
0,978661969	1,367280389		
0,981059795	1,488667672		
0,982062083	1,503492407		
0,99934857	8,644397879		
0,99934857	8,644397879		
0,97509668	1,675661702		
0,955812882	1,528303541		
0,934403121	1,472897659		
0,914491403	1,478316302		
0,88668375	1,524878125		

---

0,856483194	1,553771992
0,826395781	1,624460287
0,80164691	1,653869116
0,781020823	1,689002948
0,750451042	1,740297002
0,720995303	1,776892963
0,681486359	1,852205552
0,631280616	2,048573626
0,581797527	2,088775829
0,530361863	2,115732961
0,480000854	2,117445446
0,431115481	2,118978697
0,381112718	2,115436101
0,350630161	2,079181263
0,299536293	2,035075997
0,249837163	1,944340868
0,200370217	1,862648766
0,17985058	1,816926037
0,159690168	1,753092129
0,141887088	1,71033228

## Souhrn naměřených hodnot pro vrstvu č.4.

Vrstva č.4			
$p/p_0$ [-]	$V_a$ [cm <sup>3</sup> /g]	Průměr pórů [nm]	$dV/dr$ [cm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> ·nm <sup>-1</sup> ]
0,01229879	0,155288815	252,7009576	1,01241E-05
0,047102321	0,358672124	195,6295326	1,87233E-05
0,068749984	0,452867415	176,3518176	2,72147E-05
0,079542306	0,496633661	156,5739032	2,25744E-05
0,101686122	0,585018529	134,9903062	2,59085E-05
0,119868622	0,638856142	118,8201962	3,1295E-05
0,140400459	0,692308114	106,485337	3,4093E-05
0,160178863	0,736751965	94,95970964	3,37505E-05
0,1809972	0,778854799	82,85083644	3,43327E-05
0,201383366	0,822511946	74,54145253	4,69561E-05
0,251302984	0,894303386	66,8406297	4,26962E-05
0,301249233	0,936443518	59,69219188	4,75725E-05
0,350437963	0,98041588	53,0374899	4,84322E-05
0,400275767	1,01361547	46,30869082	4,33032E-05
0,451345192	1,048207219	40,74244885	4,91498E-05
0,499862299	1,066273463	36,08135713	5,91476E-05
0,549739844	1,10434327	32,05446472	6,02029E-05
0,601067318	1,144541934	28,63767768	6,35403E-05
0,651093176	1,199363885	25,33111669	6,32144E-05
0,701516506	1,250988223	22,44925115	6,73148E-05
0,740760224	1,315998004	19,5738642	6,38309E-05
0,771273931	1,386485855	17,10762265	3,823E-05
0,801564747	1,474179326	15,18158957	0,000102483
0,82121824	1,564320915	13,35233712	8,27882E-05
0,841484163	1,650849544	11,74185073	9,62442E-05
0,861332503	1,745277395	10,47235814	0,000134633
0,8764663	1,853612991	9,168319002	9,91061E-05
0,890748159	1,911096941	7,97155808	9,92547E-05
0,906181745	2,030874905	6,885902509	8,3611E-05
0,916321685	2,136843151	5,820357692	5,23618E-05
0,926667672	2,266117073	4,938453146	8,97348E-05
0,934407353	2,388847241	4,241570504	6,41713E-05
0,941662816	2,525434817	3,683533506	8,31238E-05
0,94843421	2,683802839	2,843386504	5,04416E-05
0,95438291	2,83272033	2,501459375	0,000119944
0,960370067	3,004945315	2,203882184	0,000236118
0,96529993	3,210930395	1,933514626	0,000222879
0,968644624	3,384022339		
0,972577016	3,615430192		
0,97464097	3,779785546		
0,978132842	4,036691389		
0,980671796	4,277294769		
0,982611544	4,510490993		
0,984554944	4,779067914		
0,986642749	5,090745328		
0,988594099	5,434897117		
0,989337872	5,632696827		
0,990892511	5,989919619		

---

0,994860923	7,012819725
0,994860923	7,012819725
0,974252209	4,808511619
0,956755854	3,770578893
0,935389575	3,33616007
0,914704764	3,158102267
0,886763621	3,010166809
0,857095282	2,917603666
0,825739743	2,822436003
0,820184485	2,782006886
0,800593753	2,772384562
0,751842214	2,706112703
0,739918803	2,695949447
0,701153603	2,672707272
0,649855687	2,6061968
0,60119497	2,574941388
0,530412599	2,510416352
0,501275967	2,475307776
0,451212075	2,437702484
0,400833654	2,385056976
0,350012238	2,326193429
0,301109356	2,251865517
0,250061515	2,184774896
0,200870632	2,074894089
0,179939254	2,022375506
0,159571984	1,962469637
0,140351679	1,908344342

**Příloha 3:****Průměry vláken naměřené pomocí softwaru Lucia G***Tabulka naměřených průměrů vláken pomocí softwaru Lucia G*

Vrstva č.1	Vrstva č.2	Vrstva č.3	Vrstva č.4
Průměr vláken [nm]	Průměr vláken [nm]	Průměr vláken [nm]	Průměr vláken [nm]
180	190	240	180
190	200	260	190
210	220	270	190
210	260	270	190
220	260	290	190
220	260	320	200
260	270	320	200
260	270	330	200
270	270	360	200
270	280	400	210
300	280	590	210
310	280	660	210
320	300	710	210
330	300	750	220
330	300	750	220
330	300	750	220
350	310	750	220
350	320	770	220
360	320	800	220
370	330	820	220
390	330	820	220
420	340	860	220
420	340	860	220
430	340	910	220
430	350	910	220
440	370	910	220
440	370	910	220
450	370	940	220
450	370	950	230
460	390	980	230
470	400	1000	230
470	400	1000	230
480	440	1000	230
500	440	1040	240
500	440	1040	240
520	450	1040	240
530	460	1060	250
560	480	1110	250
570	480	1120	250
570	490	1160	250

590	500	1220	250
600	500	1220	260
600	510	1230	260
620	520	1290	260
630	540	1290	260
630	560	1290	260
630	570	1340	260
660	580	1370	260
660	610	1390	260
670	620	1420	260
690	630	1540	260
700	630	1540	260
720	630	1550	260
730	660	1550	260
740	660	1550	270
740	670	1680	270
750	670	1680	270
760	700	1690	270
770	730	1690	270
770	740	1690	270
770	780	1710	270
820	780	1800	270
820	780	1830	270
840	800	1840	270
840	800	1850	270
850	810	1930	270
860	810	2010	270
900	820	2010	280
910	840	2010	280
950	860	2090	280
950	910	2130	290
1000	920	2190	290
1010	930	2190	300
1030	930	2200	300
1100	940	2220	300
1110	960	2300	300
1140	970	2370	300
1180	990	2390	300
1250	1010	2440	320
1260	1030	2460	320
1270	1050	2480	330
1340	1060	2500	350
1360	1090	2560	360
1380	1100	2570	360
1390	1110	2650	370
1450	1120	2700	400
1480	1160	2700	400
1590	1210	2700	410
1690	1240	2710	410
1690	1270	2710	460
1750	1330	2820	460
1770	1390	2820	480

---

1820	1440	2830	480
1870	1460	2860	490
1870	1510	2900	500
1900	1590	3030	500
1910	1750	3080	550
2030	2120	3270	610
2100	2770	3420	940
3250	3570	3900	940

**Příloha 4:****Třídící tabulky pro konstrukci histogramů**

- Stanovení počtu tříd dle Sturgesova pravidla:  $k = 1 + 3,3 \log(n)$   $n = 100$

*Třídící tabulka pro vrstvu č.1.*

Vrstva č.1				
Číslo třídy j	Rozsah třídy $d_{jd} - d_{jh}$ [nm]	třídní znak $d_j$ [nm]	absolutní četnost $n_j$ [-]	relativní četnost $f_j$ [%]
1	100 – 600	350	43	43
2	600 – 1100	850	32	32
3	1100 – 1600	1350	13	13
4	1600 – 2100	1850	11	11
5	2100 – 2600	2350	0	0
6	2600 – 3100	2850	0	0
7	3100 – 3600	3350	1	1
8	3600 - 4100	3850	0	0
			Součet = 100	

*Třídící tabulka pro vrstvu č.2.*

Vrstva č.2				
Číslo třídy j	Rozsah třídy $d_{jd} - d_{jh}$ [nm]	třídní znak $d_j$ [nm]	absolutní četnost $n_j$ [-]	relativní četnost $f_j$ [%]
1	100 – 600	350	48	48
2	600 – 1100	850	36	36
3	1100 – 1600	1350	12	12
4	1600 – 2100	1850	1	1
5	2100 – 2600	2350	1	1
6	2600 – 3100	2850	1	1
7	3100 – 3600	3350	1	1
8	3600 - 4100	3850	0	0
			Součet = 100	



Třídící tabulka pro vrstvu č.3.

Vrstva č.3				
Číslo třídy j	Rozsah třídy $d_{jd} - d_{jh}$ [nm]	třídní znak $d_j$ [nm]	absolutní četnost $n_j$ [-]	relativní četnost $f_j$ [%]
1	100 – 600	350	11	11
2	600 – 1100	850	26	26
3	1100 – 1600	1350	18	18
4	1600 – 2100	1850	15	15
5	2100 – 2600	2350	14	14
6	2600 – 3100	2850	13	13
7	3100 – 3600	3350	2	2
8	3600 - 4100	3850	1	1
			Součet = 100	

Třídící tabulka pro vrstvu č.4.

Vrstva č.4				
Číslo třídy j	Rozsah třídy $d_{jd} - d_{jh}$ [nm]	třídní znak $d_j$ [nm]	absolutní četnost $n_j$ [-]	relativní četnost $f_j$ [%]
1	150 – 250	200	41	41
2	250 – 350	300	41	41
3	350 – 450	400	7	7
4	450 – 550	500	8	8
5	550 – 650	600	1	1
6	650 – 750	700	0	0
7	750 – 850	800	0	0
8	850 - 950	900	2	2
			Součet = 100	